



INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGŁĄD WYBRANYCH TECHNOLOGII XXI W.

TOM VI

Redakcja
Jakub Kufel Piotr Lewandowski

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

INNOWACJE W MEDYCYNIE

- PRZEGLĄD WYBRANYCH TECHNOLOGII XXI W.

TOM 6

REDAKCJA

JAKUB KUFEL
PIOTR LEWANDOWSKI

INNOWACJE W MEDYCYNIE

PRZEGLĄD WYBRANYCH TECHNOLOGII XXI W.

TOM VI

Redakcja
Jakub Kufel Piotr Lewandowski

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

REDAKCJA

JAKUB KUFEL, PIOTR LEWANDOWSKI

OPIEKA NAUKOWA

DR HAB. N. MED. ZBIGNIEW NAWRAT, PROF. IPS

RECENZENCI

DR HAB. N MED. ZBIGNIEW NAWRAT, PROF. IPS

LEK. MACIEJ KOŹLIK

LEK. MATEUSZ OŹÓG

LEK. IGA STOKŁOSA

LEK. KATARZYNA BARGIEŁ

LEK. ALEKSANDRA MROSKOWIAK

LEK. WIKTORIA BARTNIKOWSKA

LEK. JOANNA SMOLARCZYK-KOSOWSKA

KOREKTA REDAKTORSKA

KAROL ŁUKOMIAK

DIANA ŁUKOMIAK

SKŁAD I PROJEKT OKŁADKI

KAROL ŁUKOMIAK

© COPYRIGHT BY AUTHORS & ARCHAEGRAPH

ISBN: 978-83-67074-93-3

WERSJA ELEKTRONICZNA DOSTĘPNA NA STRONIE INTERNETOWEJ WYDAWCY:

www.archaeograph.pl

ARCHAEGRAPH
Wydawnictwo Naukowe

ŁÓDŹ, LIPIEC 2022

SPIS TREŚCI

Przedmowa.....	7
Miejsce niskodawkowej tomografii komputerowej w screeningu raka płuca.....	9
Michał Nicze, Maciej Borówka, Stanisław Łącki-Zynzeling, Bartosz Skuratowicz, Nikodem Pietrzak	
Diagnostyka wirusologiczna zapalenia mięśnia sercowego.....	49
Piotr Lewandowski, Karol Krystek	
Neuromonitoring w anestezjologii i intensywnej terapii – przegląd aktualnie dostępnych metod i ich zastosowanie w praktyce klinicznej.....	63
Michał Wilk, Patryk Walocha	
Przegląd nowych technologii analizy mowy w diagnostyce depresji.....	101
Karolina Kamińska, Michał Ciołek, Maria Nowak	
Wykorzystanie narzędzi telemedycyny w reumatologii - kierunki rozwoju i perspektywy.....	115
Angelika Kordylewska-Kubus, Iga Paszkiewicz, Paula Nowocień, Dominik Nowocień	
Jak stworzyć lepsze szczepionki przeciw grypie?.....	127
Marcin Goławski, Joanna Sobota, Grzegorz Machelski	
Przykłady obiecujących technologii, które nie znalazły zastosowania w dopuszczonych do obrotu szczepionkach przeciw COVID-19.....	155
Marcin Goławski, Joanna Sobota, Grzegorz Machelski	
Wpływ stosowania masek na występowanie i nasilenie trądziku w trakcie pandemii COVID-19.....	183
Stanisław Anczyk, Martyna Giałbas, Karol Krystek, Daria Chłosta, Karolina Cecerko, Honorata Buniowska	

Innowacje i odkrycia w zakresie profilaktyki i terapii HIV – szansa na przełom w walce z wirusem?	207
Patrycja Piłat, Rafał Kołodziej, Zuzanna Kasieczka, Małgorzata Dyga, Paulina Eizerman, Gabriela Szpila	
Leki nowej generacji w terapii cytomegalii	223
Stanisław Anczyk, Martyna Giałbas, Karol Krystek, Daria Chłosta, Karolina Cecerko, Honorata Buniowska	
Sztuczny zwieracz cewki moczowej jako innowacyjna metoda leczenia ciężkiego nietrzymania moczu	243
Weronika Targosz	
Metody leczenia keloidów - przegląd literatury	255
Agnieszka Sawina, Agnieszka Nowotarska, Julia Gawron, Michalina Masternak, Tola Kotkiewicz, Tomasz Furgoł	
Wpływ deprivacji snu na funkcjonowanie człowieka -podstawowe informacje dotyczące zagadnienia oraz przegląd badań nad metodami zapobiegania skutkom chronicznego niewyspania	299
Katarzyna Grudnik, Małgorzata Dyga, Karolina Kruk, Anna Kowal, Martyna Żurek, Zofia Graca	
Nowe rozwiązania w leczeniu zaburzeń osobowości typu <i>borderline</i>	317
Honorata Buniowska, Daria Chłosta, Karolina Cecerko, Martyna Giałbas, Karol Krystek, Stanisław Anczyk	
Ketamina oraz jej pochodne w terapii depresji odpornej na leczenie	335
Martyna Giałbas, Karol Krystek, Daria Chłosta, Karolina Cecerko, Honorata Buniowska, Stanisław Anczyk	
Nanocząsteczki - przegląd i wykorzystanie w medycynie	353
Patrik Walocha, Michał Wilk	

PRZEDMOWA

Monografia „Innowacje w medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w. tom 6” stanowi kolejną edycję popularnej serii poświęconej najnowszym postępom jakie dokonują się w naukach medycznych i okołomedycznych.

Monografia zawiera 16 rozdziałów naukowych poświęconych szerokiej tematyce postępu, który dokonał się w medycynie. W pierwszej części przyjrzymy się nowym technologiom pozwalającym lepiej diagnozować i monitorować choroby w zakresie specjalizacji takich jak onkologia, kardiologia, anestezjologia czy psychiatria. Dalej przechodzimy do tematu profilaktyki, czyli rozwiązań związanych z prewencją chorób - szczepionek, a także zagadnień związanych z korzystaniem z maseczek ochronnych. W ostatniej części omawiamy nowe techniki terapeutyczne zarówno w dziedzinie nauk zabiegowych, jak i niezabiegowych.

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

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

Jakub Kufel
Piotr Lewandowski

Redaktorzy naukowci

MIEJSCE NISKODAWKOWEJ TOMOGRAFII KOMPUTEROWEJ W SCREENINGU RAKA PŁUCA

MICHAŁ NICZE¹, MACIEJ BORÓWKA², STANISŁAW ŁĄCKI-ZYNZELING²,
BARTOSZ SKURATOWICZ², NIKODEM PIETRZAK²

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

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

Abstrakt:

Rak płuca w Polsce jest drugim pod względem zachorowalności nowotworem złośliwym u mężczyzn oraz u kobiet, stanowiąc równocześnie pierwszą przyczynę zgonów wśród nowotworów u obu płci. W większości przypadków związany jest z niezdrowym stylem życia – głównym czynnikiem ryzyka jest narażenie na kancerogeny zawarte w dymie tytoniowym. Ze względu na długi przebieg bezobjawowy oraz nieswoiste symptomy rak płuca jest zwykle diagnozowany w zaawansowanym stadium na etapie rozsiewu, co wiąże się z bardzo złym rokowaniem – w Polsce tylko ok. 14 % pacjentów przeżywa 5 lat od postawienia rozpoznania. W celu poprawienia wykrywalności raka płuca na wczesnym etapie zaawansowania od lat poszukiwane są skuteczne metody populacyjnego screeningu, umożliwiające u większej liczby pacjentów zastosowanie leczenia radykalnego opartego m.in. na chirurgii, a dzięki temu poprawiające wskaźniki umieralności. Obecnie najbardziej obiecujące wyniki przynosi zastosowanie niskodawkowej tomografii komputerowej (NDTK) klatki piersiowej, która od 2015 r. jest powszechnie stosowana w USA u osób z wysokim ryzykiem zachorowania na raka płuca. Niniejsza praca ma na celu przedstawienie aktualnych możliwości screeningu raka płuca z wykorzystaniem niskodawkowej tomografii komputerowej, ocenę jej korzyści oraz zagrożeń, zasygnalizowanie perspektyw rozwoju w przyszłości, a także uwzględnienie realiów Ogólnopolskiego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Płuca, odnosząc się do obecnie trwającej pandemii COVID-19 jako czynnika zakłócającego i ograniczającego dostęp pacjentów do metod wczesnej diagnostyki i leczenia przeciwnowotworowego.

Słowa kluczowe: rak płuca, screening, niskodawkowa tomografia komputerowa (NDTK), Ogólnopolski Program Wczesnego Wykrywania Raka Płuca

Abstract:

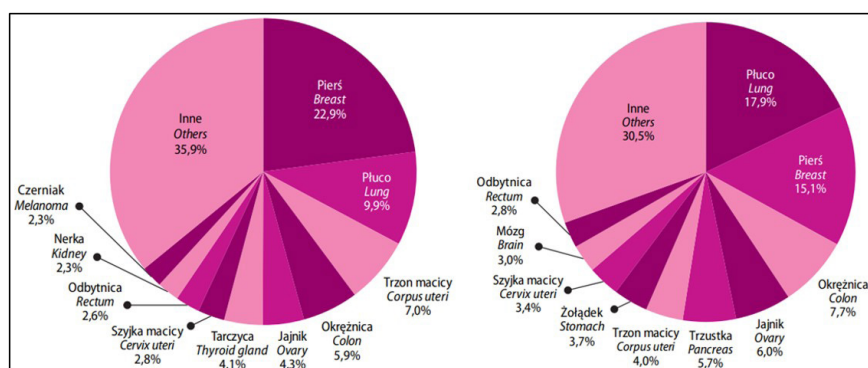
Lung cancer in Poland is the second malignancy as for the morbidity among men and women, being at the same time the leading cause of deaths due to neoplasms in both sexes. In most cases it is connected with unhealthy lifestyle – the main risk factor is the exposure to carcinogens contained in cigarette smoke. Because of long asymptomatic course of the disease and non-specific symptoms, lung cancer is typically diagnosed in an advanced stage while metastasizing, which is connected with a very poor prognosis – in Poland only about 14% of patients survive 5 years since the diagnosis. In order to enhance detectability of lung cancer in an early stage scientists for years have been searching for effective methods of population screening, enabling more patients to take advantage of radical treatment including surgery, which could

improve mortality rates. Nowadays the most promising results gives the utilization of low-dose computed tomography (LDCT) of the chest, which has been commonly used in the USA since 2015 among people with high risk of lung cancer. The aim of this paper is to present the current screening possibilities with the use of low-dose computed tomography, assess its benefits and risks, note future development prospects but also draw attention to the rules of Polish Screening Programme for the Detection of Early Lung Cancer with regard to the ongoing COVID-19 pandemic as the disturbing factor that limits patients' access to the early diagnostics and anticancer treatment.

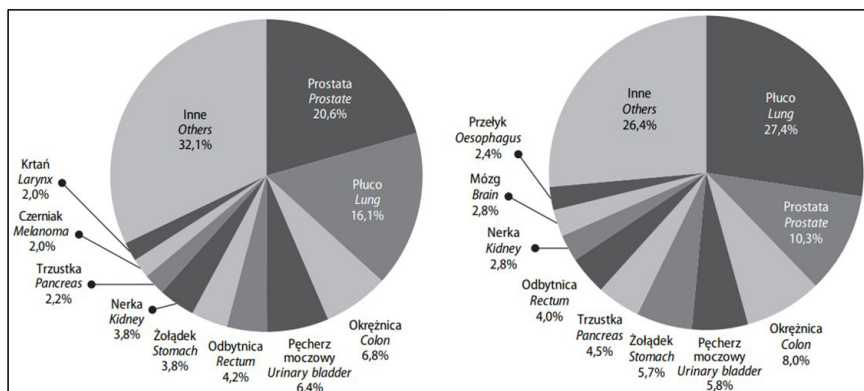
Keywords: lung cancer, screening, low-dose computed tomography (LDCT), Polish Screening Programme for the Detection of Early Lung Cancer

1. Wprowadzenie

Według najbardziej aktualnych danych Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN) przedstawionych w raporcie rocznym za 2019 r. w Polsce odnotowano 171 218 zachorowań na nowotwory złośliwe oraz 100 324 zgony z przyczyn nowotworowych. Rak płuca, czyli oskrzelopochodny nowotwór złośliwy wywodzący się z nabłonka dróg oddechowych u obu płci był drugim pod względem częstości zachorowań nowotworem złośliwym – u kobiet 8 469 przypadków (9,9%), a u mężczyzn 13 802 przypadki (16,1%) – stanowiąc równocześnie wiodącą przyczynę zgonów z powodu chorób nowotworowych zarówno u kobiet jak i u mężczyzn – odpowiednio 8 205 zgonów (17,9%) i 14 902 zgony (27,4%) (rycina 1. i rycina 2.)¹. Interesującym zjawiskiem są różnice widoczne w trendach zachorowalności w zależności od płci, co niewątpliwie związane jest ze zmianami dotyczącymi narażenia populacji polskiej na związki rakotwórcze zawarte w dymie papierosowym – u kobiet od 2014 r. zauważalny jest trend wzrostowy, natomiast u mężczyzn od 2012 r. obserwuje się trend spadkowy¹.



Rycina 1. Nowotwory złośliwe u kobiet w Polsce w 2019 r. – struktura zachorowań (diagram po lewej) oraz struktura zgonów (diagram po prawej), [Krajowy Rejestr Nowotworów]¹



Rycina 2. Nowotwory złośliwe u mężczyzn w Polsce w 2019 r. – struktura zachorowań (diagram po lewej) oraz struktura zgonów (diagram po prawej), [Krajowy Rejestr Nowotworów]¹

Ponadto w 2020 r. rak płuca w skali globalnej okazał się drugim (po raku piersi) najczęściej diagnozowanym nowotworem złośliwym (ok. 2,21 mln zachorowań, 11,4 % wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe) oraz zajął pierwsze miejsce pod względem liczby zgonów (ok. 1,8 mln, 18,0% wszystkich zgonów z przyczyn nowotworowych) (tabela 1.)².

Tabela 1. Trzy najczęściej diagnozowane nowotwory złośliwe na świecie w 2020 r. z uwzględnieniem liczby zgonów z ich powodu, [opracowanie własne]²

Lp.	Lokalizacja nowotworu złośliwego	Szacowana liczba zachorowań (% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe)	Szacowana liczba zgonów (% wszystkich zgonów spowodowanych przez nowotwory złośliwe)
1.	Rak sutka (kobiety)	2 261 419 (11,7%)	684 996 (6,9%)
2.	Rak płuca	2 206 771 (11,4%)	1 796 144 (18,0%)
3.	Rak prostaty	1 414 259 (7,3%)	375 304 (3,8%)

Przytoczone powyżej dane świadczą o tym, że rak płuca nieustannie stanowi wyzwanie w systemie ochrony zdrowia zarówno w Polsce, jak i na świecie, dlatego poszukiwane są rozwiązania, żeby zniwelować te niekorzystne statystyki. W walce z rakiem płuca nadrzędne znaczenie ma zapobieganie zachorowaniu, czyli profilaktyka pierwotna, polegająca przede wszystkim na eliminacji głównego czynnika ryzyka, jakim jest narażenie czynne bądź bierne na substancje kancerogenne zawarte w dymie tytoniowym. Nikotynizm przyczynia się bowiem do ok. 9 na 10 zgonów z powodu raka płuca³.

Fakt, że rak płuca plasuje się na pierwszym miejscu pod względem liczby zgonów wśród wszystkich nowotworów złośliwych, niewątpliwie związany jest z dużą zachorowalnością przy wysokiej śmiertelności spowodowanej opóźnionym rozpoznawaniem oraz leczeniem. Odpowiednio szybką diagnostykę na wczesnym stadium zaawansowania nowotworu, kiedy możliwe jest zastosowanie leczenia radykalnego, utrudniają długotrwały okres bezobjawowy oraz niespecyficzność niektórych objawów, np. wystąpienie kaszlu lub zmiana charakteru już istniejącego kaszlu, chrypka, przedłużające się lub nawracające zapalenie płuc, uczucie duszności czy bóle klatki piersiowej. Niestety rak płuca dużo częściej jest jednak rozpoznawany w bardziej zaawansowanych stadiach choroby, czemu mogą towarzyszyć objawy ogólnoustrojowe w postaci uczucia osłabienia, zmniejszenia masy ciała, stanów podgorączkowych lub gorączki, a także objawy typowo związane z obecnością przerzutów, jak np. limfadenopatia obwodowa zwłaszcza w okolicy nadobojczykowej, bóle kostne i złamania patologiczne kości czy dolegliwości wynikające z rozszewu do ośrodkowego układu nerwowego lub narządów jamy brzusznej. W takich przypadkach leczenie radykalne jest niemożliwe, a terapia ogranicza się do leczenia paliatywnego lub w ostateczności do opieki hospicyjnej, co niekorzystnie wpływa na rokowanie.

Rak płuca od dekad charakteryzuje się niskimi wskaźnikami 5-letnich przeżyć. W międzynarodowym badaniu CONCORD-3, w którym wzięło udział 71 krajów wskaźniki te w ostatnim przeanalizowanym okresie (pacjenci zdiagnozowani w latach 2010-2014) były następujące: 3,7% w Indiach, 8,5% w Brazylii, 10,6% w Czechach, 14,4% w Polsce, 18,3% w Niemczech, 19,4% w Australii, 21,2% w USA, 26,6% w Izraelu oraz 32,9% w Japonii⁴.

W konsekwencji wielką nadzieję na diagnozowanie raka płuca na wczesnym stadium zaawansowania, umożliwiające zastosowanie radykalnej terapii nastawionej na wyleczenie, a przez to poprawiające wskaźniki umieralności, pokładano w populacyjnych badaniach przesiewowych osób szczególnie narażonych na zachorowanie. Po opublikowaniu w ostatnich kilku latach obiecujących wyników randomizowanych badań klinicznych przeprowadzonych w ściśle określonych grupach osób palących papierosy spośród populacji amerykańskiej oraz europejskiej (m.in. holendersko-belgijskiej oraz brytyjskiej) potwierdzono użyteczność niskodawkowej tomografii komputerowej (NDTK) klatki piersiowej jako badania screeningowego. Wobec powyższych doniesień wiele towarzystw naukowych w swoich zaleceniach rekomenduje powszechne wykorzystanie tej metody obrazowej w ramach profilaktyki drugorzędowej raka płuca u osób z wysokim ryzykiem zachorowania. Niewykluczone, że

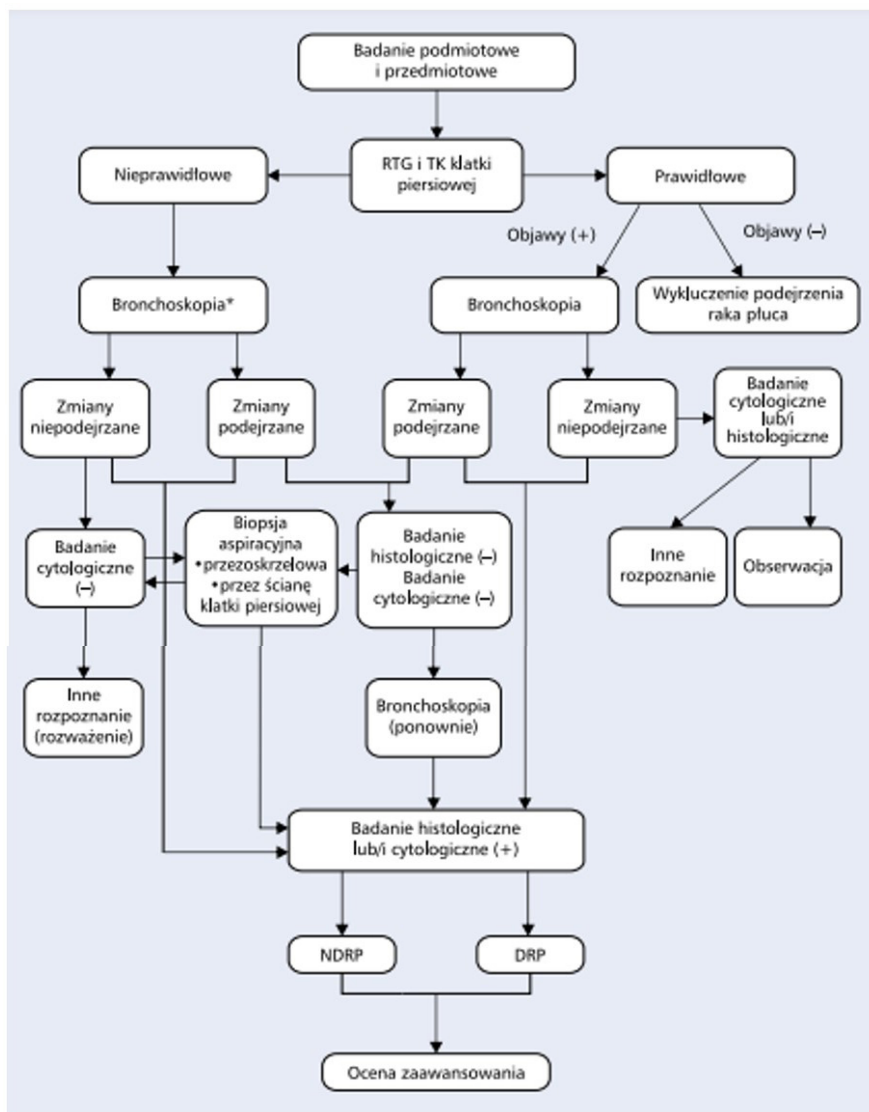
kolejne państwa pójdą w ślad za Stanami Zjednoczonymi i wprowadzą w pełni zakrojony *screening* w kierunku raka płuca oparty na NDTK, jednak ważną kwestią, która może utrudnić podjęcie decyzji o wdrożeniu takiego programu, są jego relatywnie wysokie koszty finansowe. W warunkach polskich funkcjonuje obecnie pilotaż Ogólnopolskiego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Płuca z wykorzystaniem NDTK, który w większości województw będzie realizowany do 2023 r.

2. Diagnostyka raka płuca

Badania obrazowe obok badania podmiotowego i przedmiotowego są kluczowe w zlokalizowaniu zmiany nowotworowej płuca, co jest niezbędne do precyzyjnego pobrania materiału cytologicznego lub tkankowego guza najczęściej z wykorzystaniem metod bronchofiberoskopowych. Diagnostyka patomorfologiczna raka płuca (określenie typu histologicznego – rak drobno-komórkowy, rak niedrobno-komórkowy [do tego typu zaliczają się: rak gruczolowy, rak płaskonabłonkowy i rak wielkokomórkowy], inne rzadkie raki płuca) oraz badania molekularne są konieczne do postawienia ostatecznego rozpoznania, co wraz z oceną stopnia zaawansowania nowotworu (rycina 3.)⁵ stanowi podstawę do podjęcia decyzji o zastosowaniu odpowiedniego sposobu leczenia.

2.1. Diagnostyka obrazowa raka płuca

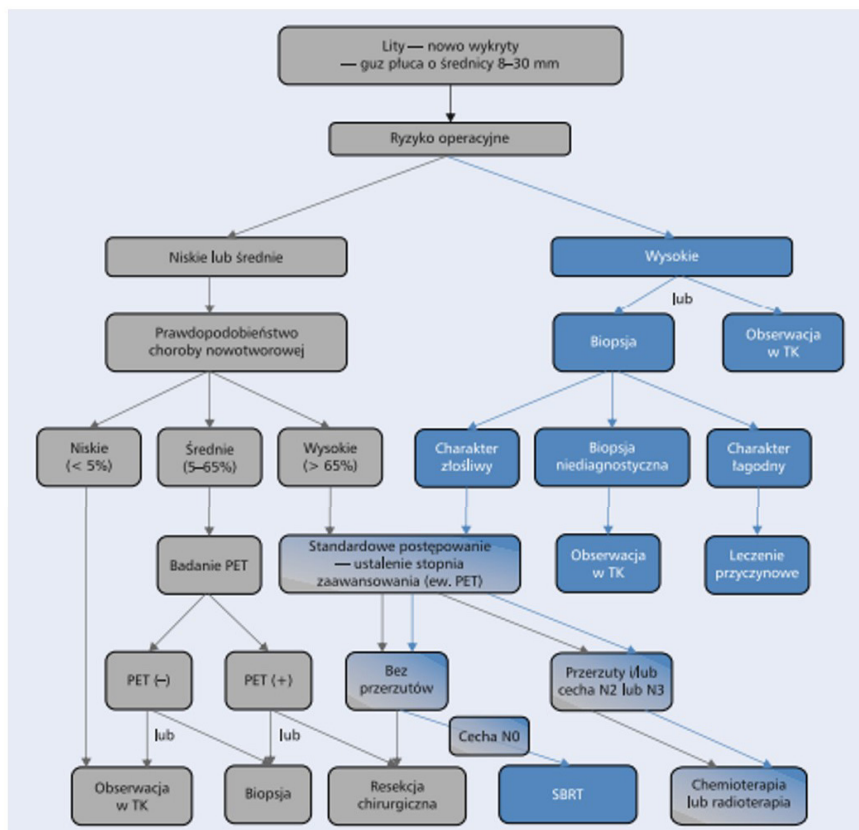
Rak płuca ze względu na długi okres bezobjawowy, jeśli jest już wykryty na wczesnym etapie zaawansowania, to przeważnie dzięki badaniom obrazowym wykonywanym z zupełnie innych powodów. W wielu krajach podstawową metodą diagnostyki obrazowej raka płuca wykonywaną z powodu zgłaszanych przez pacjentów objawów jest rentgenodiagnostyka konwencjonalna (RTG) klatki piersiowej w dwóch projekcjach – tylnoprzodniej (P-A) oraz bocznej. W większości przypadków zmiana guzowata radiologicznie objawia się jako okrągły cień, poszerzona wnęka płuca, zmiany niedodmowe lub rozdmowe albo jako obecność płynu w jamie opłucnej. Co istotne, prawidłowy radiogram klatki piersiowej jednakże nie wyklucza obecności guza nowotworowego, zwłaszcza mającego niewielkie rozmiary lub zlokalizowanego w śródpiersiu czy szczycie płuca, a wynik fałszywie negatywny może uśpić czujność lekarza, opóźniając tym samym postawienie diagnozy⁶.



Rycina 3. Zasady postępowania diagnostycznego w raku płuca. Rentgenografia (RTG), tomografia komputerowa (TK), niedrobnokomórkowy rak płuca (NDRP), drobnokomórkowy rak płuca (DRP), *w przypadku zmian zlokalizowanych w obwodowych częściach płuc w pierwszym etapie biopsja przez ścianę klatki piersiowej, [zalecenia Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej z 2019 r.]⁵

Wobec powyższego w sytuacji, gdy w badaniu rentgenograficznym klatki piersiowej zostanie uwidoczniła zmiana sugerująca nowotwór albo gdy nie stwierdza się patologii w RTG, natomiast obraz kliniczny pacjenta sugeruje podejrzenia raka płuca, konieczne jest pogłębienie diagnostyki o dokładniejsze badanie obrazowe, jakim jest tomografia komputerowa (TK) klatki piersiowej z dożylnym podaniem środka kontrastującego, obejmująca swym zasięgiem nadnercza. W wybranych przypadkach wskazane jest wykonanie badania rezonansu magnetycznego (MR) klatki piersiowej⁵.

W przypadku wykrycia w badaniu TK klatki piersiowej pojedynczego litego guzka płuca o średnicy 8-30 mm należy postępować zgodnie z algorytmem rekomendowanym przez *Fleischner Society*⁷, który uwzględnia w postępowaniu ryzyko operacyjne, a także prawdopodobieństwo wystąpienia choroby nowotworowej oraz złośliwości pobranego biopatu (rycina 4.)⁵.



Rycina 4. Wytyczne postępowania w przypadku obecności w badaniu TK litego guzka płuca o średnicy 8-30 mm; pozytonowa tomografia emisyjna (PET); tomografia komputerowa (TK); radioterapia stereotaktyczna (SBRT – ang. *stereotactic body radiation therapy*), [zalecenia Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej z 2019 r.]⁵

Wśród badań obrazowych najbardziej wartościowym pod względem wykrywania przerzutów w węzłach chłonnych śródpiersia oraz narządach odległych jest badanie pozytonowej tomografii emisyjnej (PET – ang. *positron emission tomography*) w połączeniu z TK (PET-TK)^{5, 8, 9}. Jest ono szczególnie przydatne w ocenie zasięgu nowotworu przed kwalifikacją pacjentów do radykalnego leczenia chirurgicznego lub radykalnej radioterapii oraz radiochemioterapii. Innymi badaniami, które również umożliwiają wykrycie przerzutów odległych są ultrasonografia (USG) oraz TK jamy brzusznej, TK oraz MR ośrodkowego układu nerwowego oraz scyntygrafia kości^{5, 8}.

2.2. Ocena zaawansowania raka płuca

Celem diagnostyki raka płuca jest nie tylko jego wykrycie, ale również określenie stopnia zaawansowania nowotworu (tzw. *staging*) z wykorzystaniem klasyfikacji TNM. Opiera się ona na ocenie trzech cech: T (ang. *tumor*) – wielkość pierwotnego guza nowotworowego, N (ang. *nodes*) – obecność (lub brak) przerzutów w węzłach chłonnych, M (ang. *metastases*) – obecność (lub brak) przerzutów odległych. Najbardziej aktualną i obecnie obowiązującą klasyfikację TNM w raku płuca przedstawia tabela 2.^{5, 10}

Tabela 2. Aktualnie obowiązująca klasyfikacja TNM w raku płuca (8. edycja, UICC, 2016 r.), [zalecenia PTOK z 2019 r.]⁵

Cecha	Charakterystyka
T	
TX	Guz pierwotny nie może być oceniony lub jego obecność wykazano jedynie na podstawie obecności komórek nowotworowych w wydzielinie oskrzelowej, bez możliwości uwidocznienia w badaniu obrazowym oraz bronchoskopowym
T0	Nieobecność cech guza pierwotnego
Tis	Rak <i>in situ</i>
T1	Guz o średnicy nie większej niż 3 cm, otoczony mięszem płucnym lub opłucną płucną, bez naciekania oskrzeli głównych
T1a(mi)	Rak gruczołowy minimalnie inwazyjny – pojedynczy guz – rak gruczołowy ≤ 3 cm, o przeważającym lepidycznym typie wzrostu, z komponentem inwazyjnym ≤ 5 mm w największym wymiarze
T1a	Guz o największym wymiarze 1 cm (również rzadko występujący guz pierwotny szerzący się powierzchownie, każdego wymiaru, którego składowa inwazyjna jest ograniczona do ściany oskrzela, nawet jeśli występuje w oskrzeli głównym)
T1b	Guz o największym wymiarze przekraczającym 1 cm, ale nie większym niż 2 cm

T1c	Guz o największym wymiarze przekraczającym 2 cm, ale nie większym niż 3 cm
T2	Guz o średnicy większej niż 3 cm, ale nie większej niż 5 cm lub guz z obecnością przynajmniej jednej spośród wymienionych cech: - zajęcie oskrzela głównego bez zajęcia ostrogi głównej - naciekanie opłucnej trzewnej - towarzysząca niedodma lub zapalenie płuc dochodzące do okolicy wnęki, obejmujące zarówno część, jak i całe płuco
T2a	Guz o średnicy większej niż 3 cm, ale nie większej niż 4 cm
T2b	Guz o średnicy większej niż 4 cm, ale nie większej niż 5 cm
T3	Guz o średnicy większej niż 5 cm, ale nie większej niż 7 cm lub guz każdej wielkości z obecnością naciekania jednej spośród wymienionych okolic: - ściana klatki piersiowej (w tym guz górnego otworu klatki piersiowej) - nerw przeponowy - osierdzie ścienne lub Guz ze współwystępowaniem zmian satelitarnych w tym samym płacie płuca
T4	Guz o średnicy większej niż 7 cm lub guz każdej wielkości z obecnością naciekania jednej spośród wymienionych okolic: - śródpiersie - przepona - serce - wielkie naczynia - tchawica - nerw krtaniowy wsteczny - przelyk - kręgi - ostroga główna lub Guz każdej wielkości ze współwystępowaniem zmian satelitarnych w innym płacie tego samego płuca
N	
NX	Brak możliwości oceny okolicznych węzłów chłonnych
N0	Nieobecność przerzutów w okolicznych węzłach chłonnych
N1	Przerzuty w węzłach chłonnych około oskrzelowych i/lub wnękowych po stronie guza pierwotnego oraz wewnątrzplucnych (w tym bezpośrednie zajęcie przez ciągłość od strony guza pierwotnego)
N2	Przerzuty w węzłach chłonnych śródpiersia po stronie guza pierwotnego i/lub rozwidlenia tchawicy
N3	Przerzuty w węzłach chłonnych śródpiersia lub wnęki po stronie przeciwnej, pod mięśniem pochyłym i/lub nadobojczykowych po stronie guza pierwotnego lub po stronie przeciwnej
M	
MX	Brak możliwości oceny przerzutów do narządów odległych
M0	Nieobecność przerzutów odległych
M1	Obecność przerzutów odległych

M1a	Zmiany satelitarne w przeciwległym płucu, obecność guzków opłucnej/osierdzia lub obecność komórek nowotworu w płynie z jamy opłucnej/osierdzia
M1b	Obecność pojedynczego przerzutu odległego w jednym narządzie
M1c	Mnogie przerzuty w jednym narządzie lub przerzuty w różnych narządach

Wyróżnia się klasyfikację kliniczną (cTNM) opartą głównie o wyniki badań obrazowych oraz dokładniejszą klasyfikację patomorfologiczną (pTNM), która uwzględnia wynik badania histopatologicznego usuniętych tkanek guza oraz węzłów chłonnych. Na podstawie stwierdzonych cech TNM ocenia się zaawansowanie raka płuca (zarówno typu niedrobnokomórkowego, jak i drobno-komórkowego)¹¹, klasyfikując go do poszczególnych stopni (tabela 3.)^{5, 10}.

Tabela 3. Stopnie zaawansowania raka płuca określone na podstawie aktualnie obowiązującej klasyfikacji TNM (UICC, 2016 r.), [zalecenia PTOK z 2019 r.]⁵

Stopień	Charakterystyka		
Rak utajony	TX	N0	M0
0	Tis	N0	M0
IA1	T1a(mi), T1a	N0	M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0
IIB	T1a, T1b, T1c	N1	M0
	T2a, T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T1a, T1b, T1c, T2a	N2	M0
	T2b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0, N1	M0
IIIB	T3, T4	N2	M0
	T1a, T1b, T1c, T2a	N3	M0
	T2b	N3	M0
IIIC	T3, T4	N3	M0
IVA	Każde T	Każde N	M1a, M1b
IVB	Każde T	Każde N	M1c

Innym sposobem klasyfikacji raka płuca jest podział na następujące stadia zaawansowania: miejscowe – guz ograniczony do płuca (odpowiada stopniom

I oraz II wg klasyfikacji TNM), regionalne – zajęte przez raka regionalne węzły chłonne (odpowiada stopniowi III wg klasyfikacji TNM) oraz zaawansowanie uogólnione – obecne przerzuty odległe (odpowiada stopniowi IV w klasyfikacji TNM). Niezależnie jednak od stosowanej nomenklatury, rzetelne określenie stopnia zaawansowania raka płuca ma fundamentalne znaczenie, gdyż determinuje dalsze decyzje terapeutyczne.

3. Leczenie raka płuca

Dokładna analiza metod leczenia w raku płuca nie jest przedmiotem tego opracowania. Warto natomiast zaznaczyć, że metody stosowanej terapii zależą od stopnia zaawansowania nowotworu oraz typu histopatologicznego i cech molekularnych guza, a także od stanu sprawności pacjentów. Chorzy, w zależności od potrzeb, powinni zostać objęci opieką wielospecjalistycznego zespołu, w skład którego wchodzi specjaliści torakochirurgii, radioterapii, onkologii klinicznej, pulmonologii, radiologii i diagnostyki obrazowej, patomorfologii oraz medycyny paliatywnej. Leczenie opiera się na radykalnej resekcji chirurgicznej guza oraz węzłów chłonnych z zastosowaniem lobektomii, pneumonektomii lub segmentektomii, co dotyczy tylko części pacjentów – przede wszystkim tych z niedrobnokomórkowym rakiem płuca w stadiach zaawansowania I-IIIa. Do pozostałych sposobów leczenia należą radioterapia oraz metody systemowe¹² obejmujące klasyczną chemioterapię, ale również nowoczesne leczenie dostępne głównie dla pacjentów w uogólnionym stadium choroby (stopień IV), czyli terapię ukierunkowaną na cele molekularne i immunoterapię inhibitorami punktów kontroli immunologicznej¹³. Ponadto możliwe jest również prowadzenie terapii skojarzonej z wykorzystaniem wyżej wymienionych sposobów leczenia. W przypadku chorych w fazie terminalnej choroby wskazane jest z kolei hospicyjne leczenie objawowe, zapewniające dobrą jakość życia u jego schyłku.

Wśród polskich pacjentów z rakiem płuca zdiagnozowanych w latach 2014-2016 i zgłoszonych do Krajowego Rejestru Nowotworów w ok. 15% przypadków wdrożono leczenie radykalne (z zamiarem trwałego lub długoletniego wyleczenia), u prawie 30% chorych zastosowano leczenie paliatywne (z nastawieniem na przedłużenie życia w jak najlepszej jakości, jednak bez gwarancji wyleczenia), a u 16% terapię objawową (zmniejszającą najbardziej dokuczliwe skutki choroby, np. leczenie przeciwbólowe). Natomiast ok. 0,5% pacjentów nie zgodziło się na leczenie, u co dziesiątego chorego nie uzyskano informacji odnośnie rodzaju zastosowanego leczenia, z kolei u prawie jednej

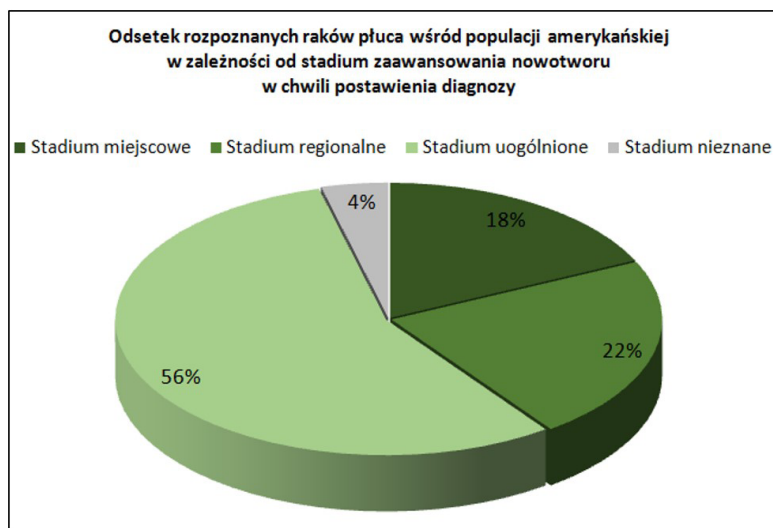
trzeciej uzyskano jedynie informację, że pacjenci zostali skierowani na leczenie. Ponadto rodzaj proponowanej terapii różnił się w zależności od stopnia zasięgu nowotworu – chorzy w stopniu miejscowym w większości byli leczeni radykalnie, u pacjentów z zaawansowaniem regionalnym przeważnie było stosowane leczenie paliatywne, a stadium uogólnione najczęściej wiązało się z leczeniem paliatywnym oraz objawowym (tabela 4.)¹⁴.

Tabela 4. Rodzaj leczenia w zależności od stadium zaawansowania u chorych na raka płuca zdiagnozowanych w latach 2014-2016 zgłoszonych do KRN, [opracowanie własne]¹⁴

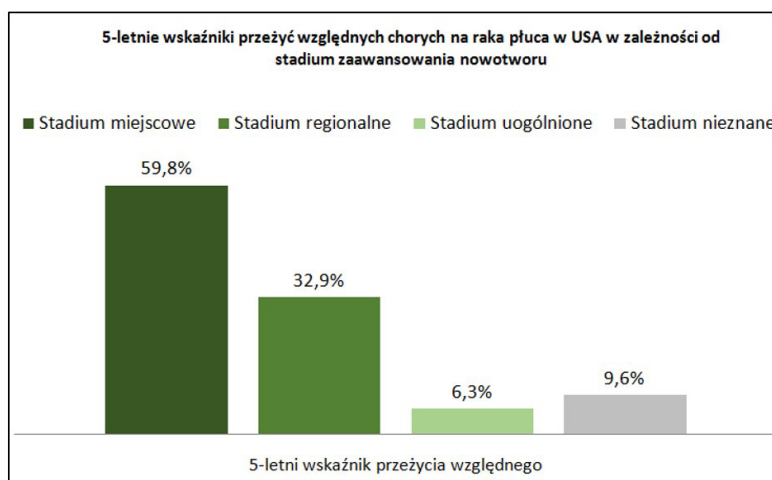
Rodzaj leczenia	Stadium miejscowe	Stadium regionalne	Stadium uogólnione	Stadium nieznane	Ogółem
Radykalne	<u>40%</u>	22%	4%	10%	15%
Paliatywne	9%	<u>29%</u>	<u>42%</u>	19%	29%
Objawowe	7%	10%	<u>24%</u>	17%	16%
Brak zgody na leczenie	0%	0%	1%	1%	0,5%
Skierowanie na leczenie	35%	31%	22%	36%	29%
Brak danych	9%	9%	8%	18%	10%

4. Rokowanie w raku płuca

Jak wspomniano we wprowadzeniu, rak płuca charakteryzuje się złym rokowaniem ogólnym, które ściśle zależy od stopnia zaawansowania nowotworu w momencie rozpoznania. Mianowicie im wcześniejsze stadium, tym lepsza przeżywalność chorych. Uśredniony wskaźnik 5-letniego przeżycia dla wszystkich chorych na raka płuca wynosi w USA ok. 21%⁴, podczas gdy ten sam wskaźnik u chorych w stadium miejscowego zaawansowania jest równy ok. 60%, jednak niestety mniej więcej tylko co piąty chory Amerykanin jest diagnozowany w tym stopniu zaawansowania. Szczegółowe dane dotyczące odsetka rozpoznawanych raków płuca oraz 5-letnich wskaźników przeżyć względnych w zależności od stadium zaawansowania klinicznego zawarte w raporcie amerykańskiego *National Cancer Institute* (NIH) za lata 2011-2017 przedstawiają ryciny 5. i 6.¹⁵.



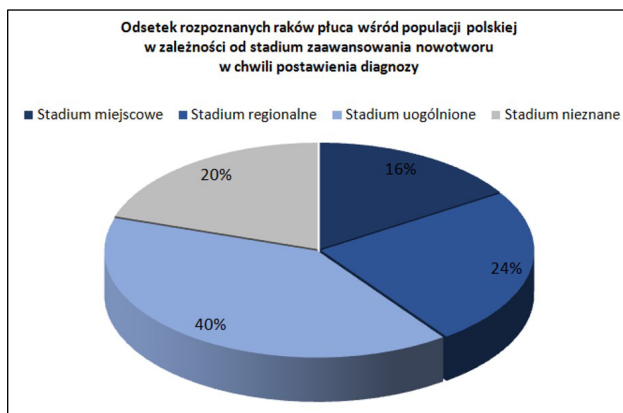
Rycina 5. Odsetek rozpoznanych raków płuca wśród populacji amerykańskiej w zależności od stadium zaawansowania nowotworu w chwili postawienia diagnozy (dane za okres 2011-2017), [opracowanie własne]¹⁵



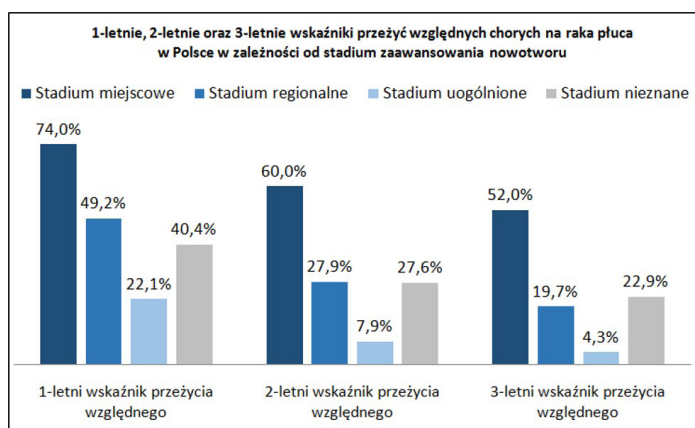
Rycina 6. 5-letnie wskaźniki przeżyć względnych chorych na raka płuca w USA w zależności od stadium zaawansowania nowotworu (dane za okres 2011-2017), [opracowanie własne]¹⁵

Analogiczne informacje odnośnie populacji polskich pacjentów zawiera opublikowany w 2019 r. „Raport dotyczący stopni zaawansowania, leczenia oraz przeżyć pacjentów chorych na raka płuca zgłoszonych do KRN w latach 2014-2016”, z którego dane zostały przedstawione na rycinach 7. i 8.¹⁴. Uśredniony wskaźnik 5-letniego przeżycia dla wszystkich chorych na raka

płuca w Polsce wynosi ok. 14%⁴. Wśród pacjentów z rakiem płuca zgłoszonych do KRN w latach 2014-2016 brak informacji o stadium zaawansowania dotyczył aż 20% chorych, co w porównaniu do danych amerykańskich podważa wiarygodność i rzetelność zgłaszania nowych zachorowań na raka płuca w Polsce. Ponadto w przedstawionym raporcie nie ma danych dotyczących 5-letnich przeżyć, natomiast są dostępne wyniki 1-, 2- oraz 3-letnich przeżyć. Pomijając przypadki z nieznanym stopniem zaawansowania, można przyjąć, że w Polsce 50% pacjentów z rakiem płuca rozpoczyna leczenie z zaawansowanym nowotworem (stadium uogólnione), 30% w stadium regionalnym, a 19% w stadium miejscowym¹⁴.



Rycina 7. Odsetek rozpoznanych raków płuca wśród populacji polskiej w zależności od stadium zaawansowania nowotworu w chwili postawienia diagnozy (dane z KRN za okres 2014-2016), [opracowanie własne]¹⁴



Rycina 8. 1-letnie, 2-letnie oraz 3-letnie wskaźniki przeżyć względnych chorych na raka płuca w Polsce w zależności od stadium zaawansowania nowotworu (dane z KRN za okres 2014-2016), [opracowanie własne]¹⁴

Przytoczone powyżej dane z rejestru amerykańskiego w dużej mierze pochodzą z okresu, kiedy w USA nie obowiązywało jeszcze powszechne użycie NDTK w screeningu raka płuca, natomiast dane z rejestru polskiego przedstawiono w raporcie za lata 2014-2016, czyli jeszcze przed wprowadzeniem obecnie obowiązującego pilotażowego Ogólnopolskiego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Płuca. Pozostaje czekać na kolejne tego typu analizy, uwzględniające pierwsze kilka lat funkcjonowania przesiewowej NDTK, aby porównać je do powyżej przedstawionych danych. Najprawdopodobniej byłyby one spójne z wynikami opublikowanych dużych randomizowanych badań klinicznych, które potwierdziły korzyści płynące z wykorzystania tej metody diagnostyki obrazowej, jednakże należy mieć na uwadze negatywny wpływ pandemii COVID-19, która ograniczyła zgłaszanie się pacjentów, ale również ich dostęp do diagnostyki i terapii przeciwnowotworowej. Na ten moment nie są dostępne szczegółowe dane populacyjne, pokazujące wpływ pandemii na ilość raportowanych zachorowań w zależności od stadium zaawansowania raka płuca w chwili diagnozy, rodzaj stosowanej terapii w zależności od stopnia zaawansowania ani na 5-letnie wskaźniki przeżywalności przypadające na okres od początku pandemii.

5. Profilaktyka raka płuca

5.1. Profilaktyka pierwszorzędowa (pierwotna)

Najlepszym sposobem redukującym ryzyko zachorowania na raka płuca oraz zmniejszającym śmiertelność z powodu tego nowotworu jest nierozpoczynanie palenia tytoniu, zaprzestanie aktywnego nikotynizmu oraz unikanie biernego narażenia na dym papierosowy^{16, 17}. Istotne jest również unikanie pozostałych czynników ryzyka zachorowania, a w ich ustaleniu ogromne znaczenie odgrywa rzetelnie przeprowadzone badanie podmiotowe. Wagę strategii antynikotynowej, promującej rezygnację z palenia u aktywnych palaczy papierosów oraz wspieranie byłych palaczy w kontynuowaniu zaprzestanego nałogu, a także zwrócenie uwagi na inne czynniki sprzyjające zachorowaniu, kwalifikujące pacjentów do grupy wysokiego ryzyka, podnoszą opracowywane wytyczne oraz programy badań przesiewowych, których idea zostanie szerzej omówiona w dalszej części opracowania.

5.1.1. Czynniki ryzyka zachorowania na raka płuca

Do czynników ryzyka zachorowania na raka płuca, jak już wspomniano powyżej, należy przede wszystkim czynne palenie papierosów. Istotne znaczenie ma dawka pochłoniętych substancji kancerogennych, których ponad 50 znajduje się w dymie tytoniowym^{18, 19}. Najczęściej wyraża się ją w paczkolatach, definiowanych jako dzienna ilość wypalanych paczek papierosów w czasie trwania nałogu liczoną w latach. Ryzyko względne zachorowania na raka płuca jest ok. 20-krotnie większe u palaczy w porównaniu do osób nigdy niepalących²⁰, a zaprzestanie palenia obniża to ryzyko²¹, jednakże będzie ono nadal wyższe u byłych palaczy niż u osób nigdy niepalących. Co więcej, szacuje się, że ok. 90% zgonów związanych z rakiem płuca wynika z nikotynizmu^{22, 23}. Ponadto badania wskazują, że bierne narażenie na dym tytoniowy również zwiększa ryzyko zachorowania na raka płuca²⁴.

Innym czynnikiem jest narażenie zawodowe na kancerogeny, wśród których można wymienić arsen, chrom, azbest, nikiel, kadm, beryl, krzem, spaliny samochodowe oraz pochodzące z węgla kamiennego, a także sadza²⁵ i radon²⁶. Dodatkowo ryzyko wzrasta, gdy nałoży się to z narażeniem na dym tytoniowy²⁷.

Dodatni wywiad w kierunku zachorowania na chłoniaka, raka okolicy głowy i szyi lub raki związane z narażeniem na palenie papierosów (np. rak pęcherza moczowego) zwiększa ryzyko na rozwinięcie się raka płuca. W dodatku wcześniejsze zachorowanie na raka płuca sprzyja pojawieniu się kolejnej nowej zmiany nowotworowej, zwłaszcza wśród pacjentów, którzy nie zaprzestali palenia papierosów²⁸, natomiast pacjenci, którzy zostali wyleczeni z raka płuca, mają szansę obniżyć ryzyko rozwinięcia się drugiego raka płuca poprzez zaprzestanie nałogu nikotynowego²⁹. Wcześniejsze leczenie radioterapią okolicy klatki piersiowej oraz stosowanie leków alkilujących również sprzyjają zachorowaniu na raka płuca. Istotnym czynnikiem ryzyka jest też obciążenie rodzinne, a zwłaszcza, gdy nałoży się ono na czynny nikotynizm³⁰.

Niektóre choroby płuc sprzyjają zachorowaniu na raka tego narządu. Należą do nich przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP)³¹, na której rozwój w dużej mierze również wpływa palenie papierosów, jednak związek POChP z rakiem płuca nie może być całkowicie przypisywany nikotynizmowi. Innym schorzeniem pulmonologicznym, mającym wpływ na rozwój raka płuca, jest śródmiąższowe włóknienie płuc (IPF)³².

5.1.2. Interwencja antynikotynowa

Stosowanie antynikotynowej interwencji (test Fagerströma dotyczący intensywności palenia papierosów i siły uzależnienia od nikotyny oraz test Schneider dotyczący motywacji do rzucenia nałogu) wśród osób aktywnie palących powinno być nieodłącznym elementem programów profilaktycznych i iść w parze z prowadzeniem badań przesiewowych opartych na NDTK. Aktywne poradnictwo antynikotynowe, uświadamiające pacjentom istnienie związku między nikotynizmem a pogorszeniem ich stanu zdrowia, może przyczynić się do większej motywacji do rzucenia palenia niż wdrożenie samego screeningu bez wspomnianej interwencji, a przez to skutecznie działanie programu badań przesiewowych. Korzyści ze wsparcia pacjentów w leczeniu zespołu uzależnienia od tytoniu wykazano w analizach przeprowadzonych wśród uczestników badania NLST, według których zastosowanie odpowiedniego poradnictwa przez lekarza podstawowej opieki zdrowotnej przyczyniło się do zwiększenia o 40% szansy na porzucenie nikotynizmu przez pacjenta, natomiast wdrożenie kompleksowej interwencji antynikotynowej podczas kolejnych wizyt zwiększało tę szansę do 46%^{33, 34}.

5.2. Profilaktyka drugorzędowa (wtórna) – screening

W ślad za badaniami przesiewowymi dotyczącymi raka jelita grubego, piersi oraz szyjki macicy od dawna poszukiwano metody screeningowej w diagnostyce raka płuca. Wobec braku skuteczności wykorzystania do tego celu badania cytologicznego płwociny oraz konwencjonalnej radiodiagnostyki klatki piersiowej^{35,36}, kilka badań obserwacyjnych, w tym badanie *Early Lung Cancer Action Project* (ELCAP), wykazało, że niskodawkowa spiralna tomografia komputerowa płuc w porównaniu do radiogramów klatki piersiowej wykrywa więcej guzków oraz raków płuca, w tym raków na wczesnym stadium zaawansowania^{37, 38}.

Wobec powyższego w ostatnich latach przeprowadzono duże badania kliniczne z randomizacją, które wykazały przydatność użycia przesiewowej NDTK, zmniejszającej w sposób istotny umieralność z powodu raka płuca. Poniżej zostaną omówione najważniejsze z nich.

5.2.1. Badanie NLST

W 2002 r. *National Cancer Institute* (NCI) rozpoczął pierwsze duże randomizowane badanie kliniczne o nazwie *National Lung Screening Trial* (NLST), dotyczące screeningu z wykorzystaniem NDTK przeprowadzonego na amerykańskiej populacji³⁹. W badaniu udział wzięło 53 454 uczestników z grupy wysokiego ryzyka zachorowania na raka płuca, czyli osoby w wieku 55-74 lat z nikotynizmem w wymiarze co najmniej 30 paczkolet w wywiadzie, którzy w momencie rozpoczęcia badania klinicznego byli czynnymi palaczami lub zaprzestali palenie papierosów w czasie ostatnich 15 lat. Wydzielono losowo dwie grupy, które raz w roku w czasie 3 lat miały wykonywane badanie NDTK (26 722 uczestników) albo klasyczną radiodiagnostykę klatki piersiowej w projekcji tylnoprzodniej (grupa kontrolna składająca się z 26 732 uczestników), a następnie były obserwowane przez kolejne 3,5 roku bez wykonywania dalszych badań obrazowych. W 2011 r. opublikowano obiecujące wyniki badania. Mianowicie wykryto 1060 przypadków raka płuca (645 zachorowania na 100 tys. osób na rok) w ramieniu z NDTK oraz 941 przypadków (572 zachorowania na 100 tys. osób na rok) w ramieniu z RTG klatki piersiowej (RR: 1,13; 95% CI: 1,03-1,23). Natomiast jeśli chodzi o zgony z powodu raka płuca, w pierwszej grupie odnotowano 356 przypadków (247 zgonów na 100 tys. osób na rok), z kolei w grupie kontrolnej były 443 przypadki (309 zgonów na 100 tys. osób na rok), co przełożyło się na 20% względne zmniejszenie umieralności związanej z rakiem płuca (95% CI: 6,8-26,7; $p=0,004$) wśród uczestników, których przebadano metodą NDTK. Ponadto wykorzystanie NDTK (1877 zgonów z jakiegokolwiek przyczyny) w porównaniu do RTG klatki piersiowej (2000 zgonów z jakiegokolwiek przyczyny) wiązało się z 6,7% redukcją umieralności ogólnej (95% CI: 1,2-13,6; $p=0,02$). Warto zaznaczyć, że aby zapobiec jednemu zgonowi z powodu raka płuc, należało wykonać NDTK u 320 uczestników badania³⁹. Wobec powyższych wyników, dowodzących, że użycie NDTK obniża ryzyko zgonu z powodu raka płuca, od 2015 r. metoda ta jest stosowana w Stanach Zjednoczonych u osób z grupy wysokiego ryzyka w ramach profilaktyki drugorzędowej jako populacyjne badanie przesiewowe⁴⁰.

Co więcej, badanie NLST dowiodło, że 40% raków wykrytych w grupie z NDTK było w stadium IA, 11,7% w stadium IIIB, a 21,7% w stadium IV. Z drugiej strony 21,1% raków wykrytych w grupie z RTG klatki piersiowej miało stadium IA, 13,1% stadium IIIB, a 36,1% stadium IV. Te wyniki wskazują, że NDTK obniża ilość przypadków z zaawansowanym rakiem płuca. W sumie 92,5% raków w zaawansowaniu IA oraz IB zdiagnozowanych

w grupie z NDTK było leczonych samą metodą chirurgiczną lub chirurgią skojarzoną z chemioterapią, radioterapią albo z radiochemioterapią³⁹.

5.2.2. Badanie NELSON

W opublikowanych w 2020 r. wynikach randomizowanego badania klinicznego o akronimie NELSON (*Nederlands-Leuvens Longkanker Screenings Onderzoek*) przeprowadzonego na populacji holendersko-belgijskiej potwierdzono użyteczność NDTK jako badania przesiewowego w warunkach europejskich. Głównym celem badania było sprawdzenie, czy *screening* oparty o NDTK po 10 latach obserwacji zmniejszy o 25% umieralność z powodu raka płuca u byłych lub aktualnych palaczy płci męskiej⁴¹.

Do badania włączono 13 195 mężczyzn (analiza podstawowa) oraz 2 594 kobiety (analiza podgrupy) z wysokim ryzykiem zachorowania na raka płuca, czyli osoby w wieku 50-74 lat z nikotynizmem w wywiadzie w wymiarze >15 wypalanych papierosów dziennie przez >25 lat lub >10 wypalanych papierosów dziennie przez >30 lat, które w momencie rozpoczęcia badania klinicznego były czynnymi palaczami lub zaprzestały palenie papierosów <10 lat temu. Uczestników losowo przydzielono do ramienia z przesiewową NDTK (wykonywana wyjściowo, po roku, po 3 latach oraz po 5,5 roku) lub do ramienia bez prowadzonego *screeningu*⁴¹.

Po 10-letniej obserwacji wykazano, że wśród mężczyzn wykryto 341 przypadków raka płuca (558 zachorowań na 100 tys. osób na rok) w ramieniu z NDTK oraz 304 przypadki (491 zachorowań na 100 tys. osób na rok) w ramieniu kontrolnym (bez zastosowanego *screeningu*) (RR: 1,14; 95% CI: 0,97-1,33). 59% raków płuca w grupie poddanej NDTK zostało wykrytych dzięki zastosowanemu *screeningowi*, a 12,8 % to raki rozpoznane w okresach między cyklicznymi badaniami *screeningowymi*. Ponadto raki płuca w stadiach IA lub IB częściej wykrywano w wyniku zastosowanych badań przesiewowych (58,6%), podczas gdy tożsame rozpoznania niezwiązane ze *screeningiem* postawiono tylko u 14,2% mężczyzn z grupy poddanej NDTK oraz u 13,5 % mężczyzn z grupy kontrolnej. Stadium IV stwierdzono w prawie połowie przypadków raków niezwiązanych z zastosowanym *screeningiem* (51,8% w grupie mężczyzn poddanych NDTK oraz 45,7% w grupie kontrolnej), natomiast tylko 9,4% raków płuca wykrytych dzięki badaniom przesiewowym zdiagnozowano w tym stopniu zaawansowania⁴¹.

Z kolei jeśli chodzi o zgon z powodu raka płuca wśród uczestników płci męskiej, w pierwszej grupie odnotowano 156 przypadków (250 zgonów na

100 tys. na rok), w grupie kontrolnej było zaś 206 przypadków (330 zgonów na 100 tys. na rok). W rezultacie skumulowane ryzyko zgonu z powodu raka płuca w populacji mężczyzn po 10 latach wyniosło 0,76 (95% CI: 0,61-0,94; $p=0,01$), czyli było o 24% mniejsze w grupie poddanej NDTK. Co interesujące, analiza danych z podgrupy kobiet wykazała skumulowane ryzyko zgonu z powodu raka płuca po 10-letniej obserwacji na poziomie 0,67 (95% CI: 0,38-1,14), co oznacza, że umieralność była o 33% mniejsza wśród kobiet poddanych screeningowi⁴¹. Jak wspomniano w poprzednim akapicie, w parze z wynikami dotyczącymi obniżenia umieralności, NDTK spowodowała znaczącą zmianę stawianych rozpoznac na korzyść mniej zaawansowanych stadiów raków płuca, a przez to na częstsze kwalifikowanie pacjentów do terapii nastawionych na wyleczenie, najczęściej z wykorzystaniem chirurgicznej resekcji.

Wyniki badania NELSON potwierdzają, że wśród grupy wysokiego ryzyka umieralność z powodu raka płuca jest istotnie mniejsza u osób, które zostały poddane badaniom przesiewowym z wykorzystaniem NDTK, co jest zbieżne z doniesieniami przedstawionymi w badaniu NLST. Naukowcy szacują, że dzięki przeprowadzeniu 4 rund badań screeningowych z użyciem NDTK wśród 7900 uczestników udało się zapobiec ok. 60 zgonom z powodu raka płuca⁴¹.

Dodatkowo wyniki te sugerują, że populacyjny *screening* oparty na NDTK może zwiększać prawdopodobieństwo wykrycia raka płuca na wczesnym stadium zaawansowania, a to, w połączeniu z odpowiednią terapią, może zwiększyć szansę na długoterminowe przeżycie⁴². Dane sugerują, że większe korzyści z powodu zastosowanej NDTK odniosły kobiety niż mężczyźni, jednak grupa kobiet biorących udział w badaniu była mniej liczna niż grupa mężczyzn, co może tłumaczyć zauważalną dysproporcję w wynikach. W przeciwieństwie do badania NLST, w którym badania NDTK były wykonywane w odstępach rocznych, w badaniu NELSON wydłużono następujące po sobie odstępy między badaniami (kolejne badanie po roku, potem po 2 latach i następnie po 2,5 roku), co pozwoliło wysnuć wniosek, że 2-letni okres między badaniami przesiewowymi powinien być bezpieczny i skuteczny, co wcześniej tylko przypuszczano⁴³.

W badaniu NELSON de Konig i in. potwierdzili skuteczność cyklicznie stosowanego *screeningu* metodą NDTK w zmniejszaniu umieralności z powodu raka płuca, jednak nadal wyzwaniem pozostaje ocena opłacalności ekonomicznej *screeningu*, która nie ma zdefiniowanej wartości i zależy od danego kraju. Wpływ na nią bez wątpienia mają zaplanowane interwały czasowe między kolejnymi badaniami NDTK, ale jeszcze bardziej istotną kwestią jest

zdefiniowanie grupy, dla której będzie przeznaczony program badań przesiewowych. Wyselekcjonowanie osób z wysokim ryzykiem zachorowania, wykorzystując walidowane modele, które przewidują ryzyko rozwinienia raka płuca, wydaje się koniecznością. W czasach, kiedy większość przypadków raków płuca w krajach rozwiniętych rozpoznaje się u byłych palaczy, precyzyjna ocena indywidualnego ryzyka choroby jest coraz bardziej istotna⁴³.

5.2.3. Badanie UKLS

Na łamach czasopisma *The Lancet Regional health – Europe* pod koniec 2021 r. Field i in. opublikowali wyniki ostatniego europejskiego randomizowanego badania klinicznego dotyczącego screeningu raka płuca z użyciem NDTK. Poza wynikami badania o akronimie UKLS (ang. *The United Kingdom Lung Cancer Screening*) brytyjscy naukowcy przedstawili również wyniki międzynarodowej meta-analizy, do której włączyli wyniki dziewięciu randomizowanych badań klinicznych dotyczących zastosowania screeningu z wykorzystaniem NDTK (w tym wyniki swojego badania), w których to raportowano dane dotyczące umieralności z powodu raka płuca z przynajmniej 3-letnim czasem obserwacji.

Uczestników badania UKLS, którzy spełnili kryterium wiekowe (50-75 lat) oraz należeli do grupy z ryzykiem rozwinienia raka płuca w następnych pięciu latach na poziomie $\geq 4,5\%$ wg modelu LLPv2 (ang. *Liverpool Lung Project vol. 2*), uwzględniającego wiek, płeć, czas trwania palenia, POChP, przypadki innych nowotworów oraz choroby w rodzinie, podzielono losowo na dwie grupy. 1987 osób znalazło się w ramieniu interwencyjnym (u tych pacjentów wyjściowo wykonano jednorazowy *screening* metodą NDTK), natomiast 1981 osób było w ramieniu kontrolnym (standardowa opieka). Pierwszorzędowym punktem końcowym była umieralność z powodu raka płuca. W czasie obserwacji (mediana: 7,3 roku) zdiagnozowano 86 przypadków raka płuca w grupie z NDTK i 75 przypadków raka płuca w grupie kontrolnej oraz raportowano 30 i 46 zgonów z powodu raka płuca odpowiednio w ramieniu ze screeningu i ramieniu kontrolnym (RR: 0,65; 95% CI: 0,41-1,02; $p=0,062$). Również nie wykazano istotnych statystycznie różnic w umieralności z powodu raka płuca zarówno w podgrupach mężczyzn (RR: 0,63; 95% CI: 0,37-1,08; $p=0,091$), jak i wśród kobiet (RR: 0,69; 95% CI: 0,28-1,69; $p=0,419$)⁴⁴.

Należy podkreślić, że w badaniu UKLS wykazano wyższy odsetek raków płuca na wczesnym stadium zaawansowania powiązany z zastosowaną przesiewową NDTK ($p < 0,001$). Co więcej, prawdopodobieństwo zdiagnozowania

raka płuca na późnych etapach zaawansowania (stadia III lub IV) było istotnie mniejsze w grupie ze screeniowaniem niż w grupie kontrolnej (OR: 0,14; 95% CI: 0,07-0,32; $p < 0,001$). Ogólnie biorąc, w ramieniu z NDTK było znacznie mniej zaawansowanych raków płuc (16 przypadków) w porównaniu do ramienia kontrolnego (37 przypadków) (RR: 0,43; 95% CI: 0,24-0,77; $p=0.005$)⁴⁴.

Chociaż zaprezentowane dane z badania UKLS dotyczące wpływu screeningowej NDTK na zmniejszenie umieralności z powodu raka płuca nie są znamienne statystycznie i mogą stanowić argument przeciwko stosowaniu NDTK jako badania przesiewowego, część naukowców ostrożnie interpretuje te wyniki⁴⁵, wskazując na inne ważne spostrzeżenia. Po pierwsze, badanie UKLS jest wyjątkowe pod względem konstrukcji – mianowicie w ramieniu interwencyjnym pacjenci zostali poddani tylko jednokrotnej, wyjściowej NDTK w ramach screeningu. Co prawda strategia pojedynczego badania przesiewowego nie jest zalecana w Europie⁴⁶, bowiem przypadki raka płuca wykrywane są w trakcie każdej kolejnej rundy screeningowej NDTK, co wykazano już w poprzednich badaniach randomizowanych, jednakże niewykluczone, że takie podejście może dostarczyć przydatne dane do projektowania programów badań przesiewowych w przyszłości. Po wtóre, prezentowane badanie jest pierwszym tego typu badaniem randomizowanym, w którym zastosowano kryteria włączenia oparte o 5-letnie ryzyko rozwoju raka płuca zgodnie z modelem ryzyka LLPv2 na poziomie $\geq 4,5$ %⁴⁷, co może przyczynić się do bardziej precyzyjnego definiowania grup zwiększonego ryzyka, które będą się kwalifikować do screeningu w przyszłości. Warto wspomnieć, że w Zjednoczonym Królestwie w ramach planu zdrowotnego *National Health Service* (NHS) w 2019 r. wprowadzono oparty o model ryzyka program badań przesiewowych z wykorzystaniem NDTK⁴⁴.

Ponadto nie ulega wątpliwości, że wartość dodaną mają dołączone wyniki międzynarodowej meta-analizy dziewięciu randomizowanych badań, do której włączono również badanie UKLS. Wykazano, że stosowanie przesiewowej NDTK w porównaniu do grupy kontrolnej wiąże się ze zmniejszeniem względnego ryzyka zgonu z powodu raka płuca o 16 % (RR: 0,84; 95% CI: 0,76-0,92), co zapewnia jednoznacznie o potrzebie stosowania screeningowej NDTK w odpowiednio określonych grupach ryzyka⁴⁴.

5.2.4. Ogólnopolski Program Wczesnego Wykrywania Raka Płuca

W 2017 r. opublikowano zalecenia europejskie^{33, 48} dotyczące wykonywania badań screeningowych w diagnostyce raka płuca. Następnie rok później na podstawie przeprowadzonych w kilku ośrodkach w Polsce regionalnych badań pilotażowych z użyciem NDTK u osób z grupy ryzyka, których wyniki zwróciły uwagę na skalę palenia papierosów wśród populacji polskiej i potwierdziły skuteczność NDTK w detekcji guzków w płucach⁴⁹, wprowadzono analogiczne zalecenia polskie⁵⁰. Przytoczone rekomendacje legły u podstaw rozpoczęcia planowania i wprowadzania narodowych programów przesiewowych opartych o NDTK w niektórych krajach europejskich, w tym w Polsce.

Jeszcze w trakcie trwania badania NELSON i przed opublikowaniem jego ostatecznych wyników zdecydowano, że od 2018 r. wystartuje pilotaż Ogólnopolskiego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Płuca z wykorzystaniem NDTK, który został zatwierdzony przez Ministerstwo Zdrowia oraz Agencję Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji dopiero w 2019 r.⁵¹. Wprowadzony program, którego funkcjonowanie zwłaszcza na samym początku ograniczyła pandemia COVID-19, wpisuje się w strategię aktualnej edycji Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych na lata 2016-2024. Nadrzędnym celem tego pilotażu jest stosowanie profilaktyki pierwotnej oraz wtórnej raka płuca, co w założeniu powinno przełożyć się na poprawę wskaźnika przeżywalności oraz redukcję wskaźnika umieralności pacjentów z rakiem płuca. W większości województw będzie on realizowany do 2023 r., a następnie zostanie przeprowadzona ewaluacja, po której możliwa będzie jego kontynuacja.

Szczegółowo wyjaśnione informacje dotyczące Ogólnopolskiego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Płuca przedstawione są w odpowiednim załączniku na stronie internetowej Ministerstwa Zdrowia⁵², a poniżej zostaną przedstawione tylko najważniejsze z nich. Screeningiem może zostać objęta populacja należąca do grupy podwyższonego ryzyka zachorowania na raka płuca, do której zaliczane są:

- osoby w wieku 55 -74 lat z nikotynizmem w wymiarze co najmniej 20 paczkolat w wywiadzie i okresem abstynencji tytoniowej nie dłuższym niż 15 lat;
- osoby w wieku 50 -74 lat z nikotynizmem w wymiarze co najmniej 20 paczkolat w wywiadzie i okresem abstynencji tytoniowej nie dłuższym niż 15 lat oraz mających przynajmniej jeden z poniższych czynników ryzyka:

- ekspozycja zawodowa na krzemionkę, beryl, nikiel, chrom, kadm, azbest, związki arsenu, spaliny silników diesla, dym ze spalania węgla kamiennego lub sadzę;
- ekspozycja na radon;
- przebyty rak płuca, chłoniak, rak głowy i szyi lub raki zależne od palenia tytoniu, np. rak pęcherza moczowego;
- rak płuca w wywiadzie u krewnych pierwszego stopnia;
- dodatni wywiad w kierunku chorób płuc – POChP lub włóknienie płuc (IPF).

Ochotnik spełniający powyższe warunki włączenia jest kwalifikowany do programu na podstawie wyrażenia świadomej zgody na poddanie się badaniu NDTK oraz na ewentualną konieczność przeprowadzenia inwazyjnych metod diagnostycznych oraz ewentualnego zabiegu chirurgicznego. Każdy uczestnik pozostaje w programie do czasu, gdy jest kandydatem do doszczętnego leczenia operacyjnego, chyba że wcześniej taka osoba podejmie decyzję o rezygnacji z uczestnictwa, do której ma prawo niezależnie od etapu programu. Podkreśla się konieczność stosowania profilaktyki pierwotnej (wypełnienie przez ochotników ankiet dotyczących stopnia uzależnienia od nikotyny i motywacji do porzucenia nałogu oraz przeprowadzenie czynnego poradnictwa antynikotynowego) przed zastosowaniem i w trakcie diagnostyki przesiewowej z użyciem NDTK.

Jak sama nazwa wskazuje, niskodawkowa tomografia komputerowa powinna zostać wykonywana w myśl zasady ALARA (ang. *As Low As Reasonably Achievable*), czyli z użyciem najmniejszej możliwej dawki promieniowania, która przy akceptowalnej jakości otrzymywanych obrazów pozwoli na postawienie rozpoznania. Stosując minimum 16-rzędowe spiralne tomografy komputerowe z algorytmami rekonstrukcyjnymi, możliwa jest redukcja otrzymywanej przez pacjenta efektywnej dawki promieniowania do 0,1 mSv⁵³, natomiast zgodnie z zaleceniami NCCN dawka pochłoniętego promieniowania dla osób z BMI ≤ 30 kg/m² powinna być na poziomie ≤ 3 mSv⁵⁴ – dla porównania konwencjonalne badanie TK klatki piersiowej to promieniowanie rzędu 7-8 mSv.

Badanie NDTK przeprowadza się podczas głębokiego wdechu i bez podawania środków kontrastowych drogą dożylną ani doustną. W opisie powinny się znaleźć wszystkie zmiany uwidocznione nie tylko płucach, ale również w śródpiersiu, sercu, naczyniach wieńcowych oraz ścianie klatki piersiowej. Szczególnej uwagi wymaga opis guzków płuca jako potencjalnych zmian sugerujących wczesnego raka. Podkreśla się rolę lekarzy radiologów, którzy

powinni posługiwać się wystandaryzowanymi kryteriami oceny guzków zgodnie z systemem Lung-RADS™, który został utworzony przez *American College of Radiology*⁵⁵. Opiera się on na zastosowaniu podziału wykrytych guzków na cztery kategorie w zależności od rosnącego ryzyka złośliwości ocenianego na podstawie ich wymiarów oraz cech radiologicznych (lite, częściowo lite, typu mlecznej szyby, uwapnione).

Zdecydowana większość wykrywanych guzków ma łagodny charakter, a interwał kolejnego cyklu badań przesiewowych zależy od cech guzków – guzki kategorii 1. i 2. należy kontrolować raz na rok w NDTK, guzki kategorii 3. wymagają kontrolnego badania NDTK za 6 miesięcy, natomiast w większości guzków kategorii 4. wskazane jest wykonanie kontrolnego badania NDTK za 3 miesiące. W przypadku wykrycia guzka, który wymaga diagnostyki (np. zmiana kategorii 4. z frakcją litą o wymiarze ≥ 8 mm) i ewentualnego zabiegu operacyjnego, pacjent nie wraca do badań przesiewowych, a w takich przypadkach stosuje się wytyczne *Fleischner Society*⁷ (rycina 4.). Stosowane badania diagnostyczne w kierunku raka płuca (TK klatki piersiowej z kontrastem, PET-TK, bronchofiberoskopia oraz biopsja guzka pod kontrolą TK lub USG) nie są wykonywane w ramach programu – wchodzi w zakres finansowanego z innych źródeł pakietu onkologicznego.

5.3. Screening w kierunku raka płuca – korzyści oraz zagrożenia

Przed przystąpieniem do programu screeningowego pacjent powinien wyrazić świadomą zgodę na uczestnictwo w nim, a do tego niezbędne jest przeprowadzenie rozmowy z wykwalifikowanym pracownikiem medycznym, który w rzetelny sposób wyjaśni pacjentowi zarówno korzyści, jak i potencjalne zagrożenia mogące wynikać z zastosowanych procedur.

5.3.1. Korzyści

Korzyści screeningu raku płuca zostały już wcześniej poruszone przy okazji omówienia przełomowych badań z randomizacją dotyczących zastosowania NDTK. Przede wszystkim można tutaj przytoczyć podstawową zaletę, czyli zmniejszenie umieralności z powodu raka płuca – na podstawie wyników badania NLST szacuje się, że skutecznie przeprowadzony *screening* w USA mógłby zapobiec ponad 12 000 przedwczesnych zgonów Amerykanów rocznie z powodu raka płuca⁵⁶.

Ponadto wśród korzyści wymienia się również możliwość wcześniejszego wykrywania raka płuca w porównaniu do standardowego diagnozowania na podstawie objawów klinicznych. Badania NLST, NELSON oraz UKLS dowiodły, że NDTK obniża ilość przypadków zaawansowanego raka płuca i wykrywa nowotwór na wcześniejszych stadiach, co może zmniejszać zachowalność związaną z leczeniem nowotworu oraz przekłada się na poprawę wyników leczenia poprzez zwiększenie możliwości zastosowania metod radykalnych przez torakochirurgów.

Do innych potencjalnych korzyści z powodu wczesnego wykrycia raka płuca zalicza się poprawę jakości życia pacjentów poprzez zmniejszenie lęku oraz obciążenia psychologicznego, a także zmiany prozdrowotne w stylu życia. W badaniu NLST pacjenci z fałszywie dodatnim wynikiem albo z istotnym przypadkowym znaleziskiem nie zgłaszali zwiększonego poczucia lęku albo negatywnych zmian w odczuwanej jakości życia miesiąc lub pół roku po wykonanym screeningu⁵⁷. Prawdopodobnie jakość życia jest również polepszona z powodu wyników negatywnych w NDTK, chociaż konieczność kontynuowania kontroli może zwiększyć poczucie lęku.

NDTK może w dodatku wykryć inne choroby niezwiązane z rakiem płuca, które wymagają kontroli (np. inne nowotwory złośliwe, POChP czy zwężenia tętnic wieńcowych), a ich leczenie najprawdopodobniej przyczyni się do zmniejszenia całkowitego obciążenia chorobami⁵⁸.

5.3.2. Zagrożenia

Screening raka płuca z wykorzystaniem NDTK nie tylko wiąże się z korzyściami, ale również z wynikających z jego stosowania zagrożeniami. Do możliwych i przewidywanych zagrożeń należą fałszywie negatywne oraz fałszywie pozytywne wyniki⁵⁹. Te pierwsze mogą opóźnić lub udaremnić postawienie diagnozy oraz rozpoczęcie adekwatnego leczenia z powodu wywołania wśród pacjentów błędnego poczucia bycia zdrowym, co również może zachęcać osoby palące do kontynuowania nałogu. Te drugie zaś powodują nadmierną rozpoznawalność zmian, spośród których większość to łagodne guzki lub indolentne nowotwory o przebiegu bezobjawowym i zwykle nieskutkujące skróceniem życia pacjentów, a które mogą być źródłem niepotrzebnego diagnozowania, w wyniku czego pacjenci mogą być narażeni na większą dawkę promieniowania jonizującego oraz na zbędne inwazyjne procedury o potencjalnych powikłaniach, do których można zaliczyć biopsję, bronchofiberoskopie oraz zabiegi torakochirurgiczne.

Chociaż nie można zaprzeczyć, że pacjenci uczestniczący w screeningu są poddawani ekspozycji na promieniowanie jonizujące, to jednak jednorazowe wykonanie badania NDTK wiąże się z przyjęciem dawki promieniowania na poziomie ok. 2 mSv, co jest wartością zbliżoną do średniej dawki naturalnego promieniowania tła pochłanianego przez mieszkańca Polski w skali roku.

Co więcej, istnieje ryzyko wykrycia małych guzów o dużej agresywności na etapie rozsiewu, uniemożliwiając spełnienie podstawowej korzyści z zastosowania badania przesiewowego, jakim powinna być zwiększona przeżywalność pacjentów. W takich sytuacjach dochodzi do obniżenia jakości życia pacjentów z powodu obciążenia psychicznego spowodowanego odczuwanym lękiem, dlatego powinni oni mieć świadomość, że samo poddanie się badaniu NDTK niekoniecznie musi przyczynić się do zapobiegnięcia śmierci z powodu raka płuca. Warto podkreślić, że pacjenci obciążeni innymi chorobami są bardziej narażeni na wymienione zagrożenia.

Niebagatelnym problemem są relatywnie wysokie koszty finansowe takich programów przesiewowych^{60,61}, wliczając w to koszty screeningu oraz dodatkowych badań diagnostycznych. Chociaż wykrywanie innych chorób niż rak płuca przy okazji wykonywania screeningowej NDTK jest najczęściej korzystne dla pacjentów, to dalsze diagnozowanie i leczenie tych chorób również zwiększa koszty całego przedsięwzięcia.

5.4. Czy NDTK spełnia wszystkie kryteria skutecznego badania przesiewowego?

Nadrzędnym celem badania przesiewowego w kierunku raka płuca jest wykrycie nowotworu na wczesnym stadium zaawansowania, czyli w momencie, kiedy wykryte zmiany mogą być poddane doszczętnej terapii, zakładającej wyleczenie pacjenta. Osoby, u których wynik testu screeningowego wyszedł pozytywny, powinny zostać skierowane na pełną diagnostykę oraz leczenie.

Do podstawowych warunków skutecznego badania przesiewowego należą⁶²:

- choroba powinna stanowić istotny problem zdrowotny;
- historia naturalna choroby powinna być dobrze poznana;
- choroba powinna być rozpoznawalna w stadium utajonym (bezobjawowym) lub we wczesnym stadium objawowym;
- powinien istnieć właściwy test do badań przesiewowych;
- powinny istnieć akceptowane i skuteczne metody leczenia tej choroby, skuteczniejsze we wczesnej fazie choroby;

- postępowanie terapeutyczne odnośnie choroby powinno być ustalone;
- profilaktyka medyczna danej choroby nie może być jednorazową akcją, ale procesem długofalowym;
- koszt programu (włączając w to także ostateczne rozpoznanie i leczenie) musi być znany i ekonomicznie wyważony, w relacji do kosztów funkcjonowania systemu ochrony zdrowia.

Badanie NDTK spełnia wszystkie wymienione wyżej warunki skutecznego badania przesiewowego, a jedyną wątpliwość może stanowić kwestia finansowa. Koszty programu przesiewowego z wykorzystaniem NDTK obejmują nie tylko samo przeprowadzenie badań screeningowych, a na ich wielkość wpływa również sposób określenia kryteriów funkcjonowania takiego programu, a w szczególności zdefiniowanie grupy wysokiego ryzyka, częstotliwość wykonywania NDTK oraz próg interpretacyjny. Należy również doliczyć koszty dodatkowych badań diagnostycznych oraz terapii.

Z powodu występowania znaczących rozbieżności w kosztach poszczególnych metod diagnostyczno-terapeutycznych w różnych systemach ochrony zdrowia nie można bezpośrednio odwzorować analiz finansowych innych państw do warunków polskich. Kanarkiewicz i in. poddali ocenie kwestię finansową, stwierdzając, że średni koszt zdiagnozowania i leczenia pacjenta chorego na raka płuca w Polsce bez przeprowadzenia badań screeningowych wynosi 24 000 zł, natomiast w sytuacji postawienia rozpoznania przy pomocy badania przesiewowego sięga on 58 862 zł. Zatem *screening* okazuje się metodą droższą względem konwencjonalnej diagnostyki, jednakże przekłada się on na dłuższe przeżycie chorych – odpowiednio ok. 7 lat w porównaniu do ok. 1 roku. Wynika z tego, że rok życia uzyskany dzięki przesiewowej NDTK kosztuje 5 817 zł, potwierdzając tym samym efektywność kosztową badań przesiewowych w Polsce⁶³.

Funkcjonujący obecnie pilotaż Ogólnopolskiego Programu Wczesnego Wykrywania Raka Płuca zostanie poddany ewaluacji przez podmiot zewnętrzny po zakończeniu jego realizacji w 2023 r. lub po zrealizowaniu większej jego części. Chociaż oficjalnie program jeszcze działa, już teraz w środowisku akademickim pojawiają się głosy krytyczne, sugerując, że jest to raczej program karykaturalny, a nie właściwie zorganizowany program badań przesiewowych⁶⁴, jaki funkcjonuje np. w USA.

Niewykluczone jednak, że w przypadku pozytywnej oceny pilotażu zostanie on w przyszłości włączony do kolejnej edycji Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych już jako oficjalnie zatwierdzony

i ustrukturyzowany program badań przesiewowych obok prowadzonych od lat programów w kierunku raków jelita grubego, szyjki macicy oraz piersi.

5.5. Perspektywy rozwoju NDTK w screeningu raka płuca

Ardila i in. zaproponowali algorytm wykorzystujący technikę sztucznej inteligencji opartej o głębokie uczenie (ang. *deep learning*), który od początku do końca miał zarówno lokalizować zmiany w płucach oraz oceniać ryzyko rozwoju raka płuca tylko na podstawie pozyskanych obrazów NDTK (aktualnych oraz wcześniej wykonanych)⁶⁵. To innowacyjne podejście wyszło poza schemat wcześniej zatwierdzonych przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) oprogramowań, w których ocenę ryzyka złośliwości wykrytych zmian pozostawiano lekarzom⁶⁶.

Model zakładał powielenie pracy radiologów, włączając w to pełną ocenę obrazów NDTK, skupienie się na podejrzanych zmianach, porównywanie obrazów do wcześniejszych dostępnych skanów oraz kalibrację względem rozpoznania na podstawie biopsji. Co istotne, w modelu tym do rozpoznawania obrazów wykorzystano konwolucyjne sieci neuronowe (ang. CNN – *convolutional neural network*).

W badaniu tym ryzyko złośliwych zmian oceniano na podstawie przypadków pochodzących z badania NLST. Dla 6 716 pacjentów, spośród których 86 miało zdiagnozowanego raka płuca, model ten uzyskał AUC-ROC równą 94,4% (95% CI: 91,1-97,3). Przeprowadzono dwie analizy. W pierwszej z nich, kiedy nie było dostępnych wcześniej wykonanych badań obrazowych, model osiągnął lepsze wyniki od 6 radiologów z całkowitą redukcją fałszywie pozytywnych wyników o 11% oraz fałszywie negatywnych wyników o 5%. W drugim przypadku, kiedy wcześniej wykonane skany były dostępne, model był równorzędny względem tych samych 6 radiologów.

Przedstawione wyniki są krokiem naprzód w kierunku automatycznej oceny obrazów NDTK pod kątem szacowania ryzyka rozwoju raka płuca dzięki wykorzystaniu sztucznej inteligencji, co w przyszłości mogłoby odciążyć lekarzy radiologów i usprawnić ich pracę w ocenianiu setek tysięcy obrazów NDTK.

5.6. Screening raka płuca a pandemia COVID-19

W wyniku wybuchu pandemii COVID-19 zaszło wiele niepokojących zmian w onkologii. Ograniczenie możliwości dostępu pacjentów do opieki

zdrowotnej poprzez wprowadzenie teleporad często bez pogłębiania diagnostyki, zawieszenie funkcjonowania programów przesiewowych, a także lęk pacjentów przed zgłaszaniem się do lekarza z niepokojącymi objawami, spowodowany możliwością zakażenia się SARS-CoV-2, przyczyniły się do wzrostowej tendencji liczby pacjentów z zaawansowanymi postaciami raka płuca.

Znaczna część tych przypadków przed pandemią była diagnozowana w oddziałach pulmonologicznych, które w ostatnich kilkunastu miesiącach masowo były zamieniane na oddziały zajmujące się pacjentami z infekcją COVID-19. Brak postawienia diagnozy skutkowało niepodejmowaniem leczenia onkologicznego. Chociaż ESMO (ang. *European Society For Medical Oncology*) wydało specjalne zalecenia opieki nad pacjentami z rakiem płuca⁶⁷, powstawały wątpliwości wynikające z realiów pandemii, w jakich warunkach leczyć już zdiagnozowanych pacjentów, żeby ograniczyć ryzyko transmisji wirusa^{68, 69}.

Van Haren i in. przeanalizowali dane dotyczące pacjentów poddawanych screeningowi w kierunku raka płuca z okresu przed pandemią COVID-19 oraz w trakcie jej trwania. Wykazano znamienne statystycznie różnicę we wskaźnikach niepojawiających się pacjentów na kontrolnych badaniach screeningowych, porównując te dwa okresy (15% vs 40%; $p < 0,04$). Jeszcze bardziej niepokojące jest porównanie odsetków wykrywanych guzków, które podejrzewano o charakter złośliwy (Lung-RADS 4) – były one wyższe po wznowieniu działalności programu badań przesiewowych (8% vs 29%; $p < 0,01$)⁷⁰.

Patt i in. wykazali, że wśród amerykańskich seniorów w 2020 r. w porównaniu do 2019 r. nastąpiło znaczące zmniejszenie w przeprowadzonych badaniach screeningowych z największym spadkiem sięgającym 75% w kwietniu 2020 r. Co więcej, zauważalne były również spadki w przeprowadzanych biopsjach zmian w płucach o 58% w kwietniu 2020 r. oraz o 47% w lipcu 2020 r.⁷¹

Prognozuje się, że opóźnienia w wykonywanych badaniach przesiewowych, a przez to w dalszym diagnozowaniu i leczeniu, będą skutkować nadprogramowymi zgonami z powodu raka płuca, a po 5 latach śmiertelność z powodu tego nowotworu może wzrosnąć o 5,3%⁷².

Ważnym aspektem, który powinien wzbudzać wzmożoną czujność lekarzy, jest diagnostyka różnicowa stwierdzanych w badaniach TK klatki piersiowych zmian. Niektóre z nich mogą objawiać się podobnymi obrazami radiologicznymi, a wykrycie zmian typu matowej szyby może sugerować zarówno zmiany zapalne w przebiegu COVID-19, jak i wczesną postać raka płuca⁷³.⁷⁴ W literaturze opisano przypadek pacjentki przyjętej do szpitala z ostrymi objawami zapalenia płuc w przebiegu infekcji COVID-19 z ukrytym, niezdiagnozowanym rakiem gruczołowym płuca⁷⁵.

6. Podsumowanie

Niewątpliwym wyzwaniem nowoczesnej medycyny jest ograniczanie zachorowalności, poprawienie wykrywalności raka płuca na wczesnym stadium zaawansowania oraz zmniejszenie ogólnej umieralności z jego powodu, zwłaszcza w czasach, kiedy pandemia COVID-19 ograniczyła możliwość zrealizowania tych celów w najbliższych latach. Głównymi narzędziami mającymi pomóc w ich osiągnięciu niezmiennie są działania z zakresu profilaktyki pierwotnej oraz wtórnej – eliminacja czynników ryzyka zachorowania poprzez zdrowy tryb życia, a zwłaszcza unikanie narażenia czynnego oraz biernego na dym papierosowy, a także zastosowanie przesiewowej NDTK klatki piersiowej wśród osób z wysokim ryzykiem zachorowania na ten nowotwór, której skuteczność udowodniły duże badania z randomizacją. Niemale koszty finansowe związane ze stosowaniem tej metody mogą ograniczać niektóre państwa przed implementacją takiego programu, jednakże koszty społeczne w związku z rakiem płuca, który stanowi pierwszą przyczynę zgonów wśród wszystkich nowotworów na świecie, wydają się ważniejsze. Wcześniejsze postawienie diagnozy przekłada się na możliwość zastosowania terapii radykalnej nastawionej na wyleczenie, opartej przede wszystkim na chirurgii, a ciągle rozwijające się nowe metody leczenia systemowego ingerujące głównie w mechanizmy molekularne oraz immunologiczne poprawiają rokowanie nawet wśród pacjentów z zaawansowanym rakiem płuca.

Referencje

1. Wojciechowska Urszula, Didkowska Joanna. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. *Raport roczny „Nowotwory złośliwe w Polsce w 2019 roku”*. Dostępne na stronie <http://onkologia.org.pl/raporty/> dostęp z dnia 27/02/2022
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Annual smoking-attributable mortality, years of potential life lost, and productivity

- losses--United States, 1997-2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2005;54(25):625-628.
4. Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet.* 2018;391(10125):1023-1075. doi:10.1016/S0140-6736(17)33326-3
5. Krzakowski M, Jassem J, Antczak A et al. Cancer of the lung, pleura and mediastinum. *Oncol Clin Pract* 2019; 15. doi: 10.5603/OCP.2018.0056
6. Foley RW, Nassour V, Oliver HC, et al. Chest X-ray in suspected lung cancer is harmful. *Eur Radiol.* 2021;31(8):6269-6274. doi:10.1007/s00330-021-07708-0
7. MacMahon H, Naidich DP, Goo JM, et al. Guidelines for Management of Incidental Pulmonary Nodules Detected on CT Images: From the Fleischner Society 2017. *Radiology.* 2017;284(1):228-243. doi:10.1148/radiol.2017161659
8. Rivera MP, Mehta AC, Wahidi MM. Establishing the diagnosis of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013;143(5 Suppl):e142S-e165S. doi:10.1378/chest.12-2353
9. De Leyn P, Doooms C, Kuzdzal J, et al. Revised ESTS guidelines for preoperative mediastinal lymph node staging for non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45(5):787-798. doi:10.1093/ejcts/ezu028
10. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C (ed.) *TNM Classification of Malignant Tumours*, 8th Edition. John Wiley & Sons, Inc, Oxford 2016.
11. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2016;11(1):39-51. doi:10.1016/j.jtho.2015.09.009

12. Remon J, Soria JC, Peters S; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer: an update of the ESMO Clinical Practice Guidelines focusing on diagnosis, staging, systemic and local therapy. *Ann Oncol.* 2021;32(12):1637-1642. doi:10.1016/j.annonc.2021.08.1994
13. Ruiz-Cordero R, Devine WP. Targeted Therapy and Checkpoint Immunotherapy in Lung Cancer. *Surg Pathol Clin.* 2020;13(1):17-33. doi:10.1016/j.path.2019.11.002
14. Wojciechowska Urszula, Didkowska Joanna. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. „Raport dotyczący stopni zaawansowania, leczenia oraz przeżyć pacjentów chorych na raka płuca zgłoszonych do KRN w latach 2014-2016”. Dostępne na stronie <http://onkologia.org.pl/raporty/> dostęp z dnia 27/02/2022
15. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2018, National Cancer Institute. Bethesda, MD, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>, based on November 2020 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2021. dostęp z dnia 27/02/2022
16. Jha P, Ramasundarahettige C, Landsman V, et al. 21st-century hazards of smoking and benefits of cessation in the United States. *N Engl J Med.* 2013;368(4):341-350. doi:10.1056/NEJMsa1211128
17. Anthonisen NR, Skeans MA, Wise RA, et al. The effects of a smoking cessation intervention on 14.5-year mortality: a randomized clinical trial. *Ann Intern Med.* 2005;142(4):233-239. doi:10.7326/0003-4819-142-4-200502150-00005
18. Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(14):1194-1210. doi:10.1093/jnci/91.14.1194
19. Secretan B, Straif K, Baan R, et al. A review of human carcinogens--Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *Lancet Oncol.* 2009;10(11):1033-1034. doi:10.1016/S1470-2045(09)70326-2

20. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Smoking-attributable mortality, years of potential life lost, and productivity losses--United States, 2000-2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2008;57(45):1226-1228.
21. Chen LS, Baker T, Hung RJ, et al. Genetic Risk Can Be Decreased: Quitting Smoking Decreases and Delays Lung Cancer for Smokers With High and Low CHRNA5 Risk Genotypes - A Meta-Analysis. *EBioMedicine.* 2016;11:219-226. doi:10.1016/j.ebiom.2016.08.012
22. Jemal A, Thun MJ, Ries LA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(23):1672-1694. doi:10.1093/jnci/djn389
23. Jemal A, Ward EM, Johnson CJ, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2014, Featuring Survival. *J Natl Cancer Inst.* 2017;109(9):dix030. doi:10.1093/jnci/dix030
24. Garfinkel L. Time trends in lung cancer mortality among nonsmokers and a note on passive smoking. *J Natl Cancer Inst.* 1981;66(6):1061-1066. doi:10.1093/jnci/66.6.1061
25. Steenland K, Loomis D, Shy C, Simonsen N. Review of occupational lung carcinogens. *Am J Ind Med.* 1996;29(5):474-490. doi:10.1002/(SICI)1097-0274(199605)29:5<474::AID-AJIM6>3.0.CO;2-M
26. Leuraud K, Schnelzer M, Tomasek L, et al. Radon, smoking and lung cancer risk: results of a joint analysis of three European case-control studies among uranium miners. *Radiat Res.* 2011;176(3):375-387. doi:10.1667/rr2377.1
27. Frost G, Darnton A, Harding AH. The effect of smoking on the risk of lung cancer mortality for asbestos workers in Great Britain (1971-2005). *Ann Occup Hyg.* 2011;55(3):239-247. doi:10.1093/annhyg/meq089
28. Shiels MS, Gibson T, Sampson J, et al. Cigarette smoking prior to first cancer and risk of second smoking-associated cancers among survivors of bladder, kidney, head and neck, and stage I lung cancers. *J Clin Oncol.* 2014;32(35):3989-3995. doi:10.1200/JCO.2014.56.8220

29. Richardson GE, Tucker MA, Venzon DJ, et al. Smoking cessation after successful treatment of small-cell lung cancer is associated with fewer smoking-related second primary cancers. *Ann Intern Med.* 1993;119(5):383-390. doi:10.7326/0003-4819-119-5-199309010-00006
30. Li X, Hemminki K. Familial multiple primary lung cancers: a population-based analysis from Sweden. *Lung Cancer.* 2005;47(3):301-307. doi:10.1016/j.lungcan.2004.07.048
31. Skillrud DM, Offord KP, Miller RD. Higher risk of lung cancer in chronic obstructive pulmonary disease. A prospective, matched, controlled study. *Ann Intern Med.* 1986;105(4):503-507. doi:10.7326/0003-4819-105-4-503
32. Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(1):5-8. doi:10.1164/ajrccm.161.1.9906062
33. Pedersen JH, Rzyman W, Veronesi G, et al. Recommendations from the European Society of Thoracic Surgeons (ESTS) regarding computed tomography screening for lung cancer in Europe. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2017;51(3):411-420. doi:10.1093/ejcts/ezw418
34. Kauczor HU, Bonomo L, Gaga M, et al. ESR/ERS white paper on lung cancer screening. *Eur Respir J.* 2015;46(1):28-39. doi:10.1183/09031936.00033015
35. Oken MM, Hocking WG, Kvale PA, et al. Screening by chest radiograph and lung cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) randomized trial. *JAMA.* 2011;306(17):1865-1873. doi:10.1001/jama.2011.1591
36. Manser R, Lethaby A, Irving LB, et al. Screening for lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;2013(6):CD001991. Published 2013 Jun 21. doi:10.1002/14651858.CD001991.pub3
37. Henschke CI, McCauley DI, Yankelevitz DF, et al. Early Lung Cancer Action Project: overall design and findings from baseline screening. *Lancet.* 1999;354(9173):99-105. doi:10.1016/S0140-6736(99)06093-6

38. Doria-Rose VP, Szabo E. Screening and prevention of lung cancer. In: Kern-stine KH, Reckamp KL, editors. *Lung cancer: a multidisciplinary approach to diagnosis and management*. New York: Demos Medical Publishing; 2010. pp. 53–72.
39. National Lung Screening Trial Research Team, Aberle DR, Adams AM, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011;365(5):395-409. doi:10.1056/NEJMoa1102873
40. Fintelmann FJ, Bernheim A, Digumarthy SR, et al. The 10 Pillars of Lung Cancer Screening: Rationale and Logistics of a Lung Cancer Screening Program. *Radiographics*. 2015;35(7):1893-1908. doi:10.1148/rg.2015150079
41. de Koning HJ, van der Aalst CM, de Jong PA, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *N Engl J Med*. 2020;382(6):503-513. doi:10.1056/NEJMoa1911793
42. Romero D. NELSON updated. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(4):197. doi:10.1038/s41571-020-0342-x
43. Duffy SW, Field JK. Mortality Reduction with Low-Dose CT Screening for Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2020;382(6):572-573. doi:10.1056/NEJMe1916361
44. Field JK, Vulkan D, Davies MPA, et al. Lung cancer mortality reduction by LDCT screening: UKLS randomised trial results and international meta-analysis. *Lancet Reg Health Eur*. 2021;10:100179. Published 2021 Sep 11. doi:10.1016/j.lanepe.2021.100179
45. Darrason M, Grolleau E, De Bermont J, Couraud S. UKLS trial: looking beyond negative results. *Lancet Reg Health Eur*. 2021;10:100184. Published 2021 Sep 11. doi:10.1016/j.lanepe.2021.100184
46. Kauczor HU, Baird AM, Blum TG, et al. ESR/ERS statement paper on lung cancer screening. *Eur Respir J*. 2020;55(2):1900506. Published 2020 Feb 12. doi:10.1183/13993003.00506-2019
47. Field JK, Vulkan D, Davies MPA, Duffy SW, Gabe R. Liverpool Lung Project lung cancer risk stratification model: calibration and prospective validation. *Thorax*. 2021;76(2):161-168. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-215158

48. Oudkerk M, Devaraj A, Vliegenthart R, et al. European position statement on lung cancer screening. *Lancet Oncol.* 2017;18(12):e754-e766. doi:10.1016/S1470-2045(17)30861-6
49. Rzyman W, Dziedzic R, Jelitto-Górska M, et al. Results of an open-access lung cancer screening program with low-dose computed tomography: The Gdańsk experience. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej.* 2015; 125. 232-239. 10.20452/pamw.2778.
50. Rzyman W, Didkowska J, Dziedzic R, et al. Consensus statement on a screening programme for the detection of early lung cancer in Poland. *Adv Respir Med.* 2018;86(1):53-74. doi:10.5603/ARM.2018.0009
51. Agencja Oceny Technologii Medycznych i Taryfikacji, Wydział Oceny Technologii Medycznych. Wczesne wykrywanie raka płuca z wykorzystaniem NDTK Raport w sprawie zalecanych technologii medycznych, działań przeprowadzanych w ramach programów polityki zdrowotnej oraz warunków realizacji tych programów (art. 48aa ust. 1 Ustawy). Warszawa, Polska, 2019 r. https://bipold.aotm.gov.pl/assets/files/ppz/2020/RPT/10%20BIP%20RAPORT_zalec_tech_n_art_48aa_rak_pluca.pdf dostęp z dnia 27/02/2022
52. Ministerstwo Zdrowia. Ogólnopolski Program Wczesnego Wykrywania Raka Płuca (WWRP) za Pomocą Niskodawkowej Tomografii Komputerowej (NDTK) – połączenie prewencji wtórnej z pierwotną w celu poprawy świadomości dotyczącej raka płuca wśród społeczeństwa i personelu ochrony zdrowia. Warszawa, Polska, 2018 r. https://www.power.gov.pl/media/72320/Zalacznik_17_Ogolnopolski_Program_WWRP.pdf dostęp z dnia 27/02/2022
53. Fujita M, Higaki T, Awaya Y, et al. Lung cancer screening with ultra-low dose CT using full iterative reconstruction. *Jpn J Radiol.* 2017;35(4):179-189. doi:10.1007/s11604-017-0618-y
54. National Comprehensive Cancer Network. Guidelines On Lung Cancer Screening. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/lung_screening.pdf dostęp z dnia 27/02/2022
55. Chelala L, Hossain R, Kazerooni EA, Christensen JD, Dyer DS, White CS. Lung-RADS Version 1.1: Challenges and a Look Ahead, From the *AJR* Special Series on Radiology Reporting and

- Data Systems. *AJR Am J Roentgenol.* 2021;216(6):1411-1422. doi:10.2214/AJR.20.24807
56. Ma J, Ward EM, Smith R, Jemal A. Annual number of lung cancer deaths potentially avertable by screening in the United States. *Cancer.* 2013;119(7):1381-1385. doi:10.1002/cncr.27813
57. Gareen IF, Duan F, Greco EM, et al. Impact of lung cancer screening results on participant health-related quality of life and state anxiety in the National Lung Screening Trial. *Cancer.* 2014;120(21):3401-3409. doi:10.1002/cncr.28833
58. Mets OM, de Jong PA, Prokop M. Computed tomographic screening for lung cancer: an opportunity to evaluate other diseases. *JAMA.* 2012;308(14):1433-1434. doi:10.1001/jama.2012.12656
59. Martin MD, Kanne JP, Broderick LS, Kazerooni EA, Meyer CA. Lung-RADS: Pushing the Limits. *Radiographics.* 2017;37(7):1975-1993. doi:10.1148/rg.2017170051
60. Rampinelli C, De Marco P, Origgi D, et al. Exposure to low dose computed tomography for lung cancer screening and risk of cancer: secondary analysis of trial data and risk-benefit analysis. *BMJ.* 2017;356:j347. Published 2017 Feb 8. doi:10.1136/bmj.j347
61. Wiener RS. Balancing the benefits and harms of low-dose computed tomography screening for lung cancer: Medicare's options for coverage. *Ann Intern Med.* 2014;161(6):445-446. doi:10.7326/M14-1352
62. Populacyjne badania przesiewowe – potrzeby badawcze i działania praktyczne. Population-based screening programs – research needs and practical measures. Jan E. Zejda Probl Hig Epidemiol 2009, 90(4): 435-440 <http://phie.pl/pdf/phe-2009/phe-2009-4-435.pdf>
63. Kanarkiewicz M, Szczęsny TJ, Krysiński J, Buciński A, Kowalewski J, Pawłowicz Z. Cost-effectiveness analysis of lung cancer screening with low-dose computerised tomography of the chest in Poland. *Contemp Oncol (Pozn).* 2015;19(6):480-486. doi:10.5114/wo.2015.56656
64. Kuźdżał J.: Komentarz. W: Wpływ badania przesiewowego w kierunku raka płuca za pomocą niskodawkowej tomografii komputerowej na ryzyko zgonu – badanie NELSON. Med. Prakt., 2020; 7-8: 166–167

65. Ardila D, Kiraly AP, Bharadwaj S, et al. End-to-end lung cancer screening with three-dimensional deep learning on low-dose chest computed tomography [published correction appears in *Nat Med.* 2019 Aug;25(8):1319]. *Nat Med.* 2019;25(6):954-961. doi:10.1038/s41591-019-0447-x
66. Das M, Mühlenbruch G, Heinen S, et al. Performance evaluation of a computer-aided detection algorithm for solid pulmonary nodules in low-dose and standard-dose MDCT chest examinations and its influence on radiologists. *Br J Radiol.* 2008;81(971):841-847. doi:10.1259/bjr/50635688
67. Passaro A, Addeo A, Von Garnier C, et al. ESMO Management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: Lung cancer. *ESMO Open.* 2020;5(Suppl 3):e000820. doi:10.1136/esmoopen-2020-000820
68. Merritt RE, Kneuert PJ. Considerations for the Surgical Management of Early Stage Lung Cancer During the COVID-19 Pandemic. *Clin Lung Cancer.* 2021;22(3):156-160. doi:10.1016/j.clc.2020.06.024
69. Chang SH, Zervos M, Kent A, et al. Safety of patients and providers in lung cancer surgery during the COVID-19 pandemic. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2020;58(6):1222-1227. doi:10.1093/ejcts/ezaa332
70. Van Haren RM, Delman AM, Turner KM, et al. Impact of the COVID-19 Pandemic on Lung Cancer Screening Program and Subsequent Lung Cancer. *J Am Coll Surg.* 2021;232(4):600-605. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2020.12.002
71. Patt D, Gordan L, Diaz M, et al. Impact of COVID-19 on Cancer Care: How the Pandemic Is Delaying Cancer Diagnosis and Treatment for American Seniors. *JCO Clin Cancer Inform.* 2020;4:1059-1071. doi:10.1200/CCI.20.00134
72. Maringe C, Spicer J, Morris M, et al. The impact of the COVID-19 pandemic on cancer deaths due to delays in diagnosis in England, UK: a national, population-based, modelling study [published correction appears in *Lancet Oncol.* 2021 Jan;22(1):e5]. *Lancet Oncol.* 2020;21(8):1023-1034. doi:10.1016/S1470-2045(20)30388-0

73. Zhang YJ, Yang WJ, Liu D, et al. COVID-19 and early-stage lung cancer both featuring ground-glass opacities: a propensity score-matched study. *Transl Lung Cancer Res.* 2020;9(4):1516-1527. doi:10.21037/tlcr-20-892
74. Perrone F, Balbi M, Casartelli C, et al. Differential diagnosis of COVID-19 at the chest computed tomography scan: A review with special focus on cancer patients. *World J Radiol.* 2021;13(8):243-257. doi:10.4329/wjr.v13.i8.243
75. Iadevaia C, Perrotta F, Mazzeo G, et al. Incidental diagnosis of lung adenocarcinoma following coronavirus OC 43 severe pneumonia. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2020;90(3):10.4081/monaldi.2020.1313. Published 2020 Jul 14. doi:10.4081/monaldi.2020.1313

DIAGNOSTYKA WIRUSOLOGICZNA ZAPALENIA MIĘŚNIA SERCOWEGO

PIOTR LEWANDOWSKI¹, KAROL KRYSZEK²

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

2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Farmakologii,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt

Badanie wirusologiczne wycinków mięśnia sercowego stanowią istotny element diagnostyki klinicznej zapalenia mięśnia sercowego decydujący w oparciu o aktualne standardy o sposobie postępowania leczniczego. Niniejsze prace omawia najczęściej stosowane metody wykorzystywane w diagnostyce wirusologicznej zapalenia mięśnia sercowego: reakcję łańcuchową polimerazy, metody hybrydizacyjne, bezpośrednią hodowlę wirusologiczną, metody serologiczne oraz metody immunohistochemiczne. Obok omówienia poszczególnych metod diagnostycznych w pracy przedstawiono także ich zalety i wady. W oparciu o dostępną literaturę, a także doświadczenia własne autorów jako metodę z wyboru do detekcji materiału genetycznego wirusów w tkankach mięśnia sercowego w przebiegu zapalenia mięśnia sercowego postuluje się metodę łańcuchowej reakcji polimerazy, w tym w szczególności ilościowej łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym i cyfrowej łańcuchowej reakcji polimerazy.

Słowa kluczowe: zapalenie mięśnia sercowego, biopsja mięśnia sercowego, diagnostyka wirusologiczna, PCR

Abstract

Virological examination of myocardial biopsies remains an important element of clinical myocarditis diagnostics directing, based on current guidelines, clinical management. This paper summarizes the most common methods used in diagnosis of viral myocarditis – polymerase chain reaction, hybridization methods, direct viral culture, serological and immunohistochemical methods. In this review we briefly described each method principle and their pros and cons. Basing on available literature and authors experience the polymerase chain reaction is recommended as a method of choice in detection of viral nucleic acid in myocardial biopsies. Especially, quantitative real time polymerase chain reaction and digital polymerase chain reaction are advised.

Keywords: myocarditis, viral diagnostics, PCR

1. Wstęp

Infekcje wirusowe stanowią drugą co do częstości po reakcjach autoimmunologicznych przyczynę zapalenia mięśnia sercowego (ZMS). Ustalenie potencjalnego czynnika sprawczego choroby ma kluczowe znaczenie w wyborze sposobu postępowania leczniczego. W przypadku obecności wirusów, celowanej terapii antywirusowej natomiast w przypadku obecności reakcji autoimmunologicznych, terapii immunosupresyjnej. Wprowadzenie nieoptymalnej terapii może skutkować progresją choroby a tym samym pogorszeniem rokowań pacjenta.

Nadal złotym standardem diagnostyki ZMS jest biopsja endomiokardialna, podczas której poprzez wprowadzony do serca cewnik pobierany jest niewielki wycinek mięśnia sercowego. Standardowo, biopsjaty poddawane są standardowej ocenie histochemicznej a także obecnie coraz częściej ocenie immunohistochemicznej pozwalającej potwierdzić obecność oraz nasilenie stanu zapalnego. Klasyczne techniki histologiczne nie pozwalają, jednakże na potwierdzenie obecności wirusów w tkankach mięśnia sercowego. Tym samym konieczne jest zastosowanie specjalistycznych technik dedykowanych diagnostyce wirusologicznej. Celem niniejszej pracy jest omówienie dostępnych technik służących diagnostyce wirusowego ZMS.

2. Wirusy wywołujące ZMS

Lista wirusów zdolnych wywołać ZMS jest praktycznie nieograniczona. Tschöpe i inni sklasyfikowali wirusy zdolne wywołać zapalenie mięśnia sercowego z podziałem ze względu na tropizm oraz patomechanizm uszkodzenia miocytów serca – Tab. 1¹.

Tab. 1 Podział wirusów będących czynnikami ZMS (na podstawie Tschöpe i in. 2021)¹

Grupa	Przykłady wirusów
Wirusy kardiotropowe	Adenowirusy, enterowirusy (w tym Coxsackie)
Wirusy waskultotropowe	Parwovirus B19
Wirusy limfotropowe	Cytomegalowirus, Wirus Epsteina-Barra, HHV-6
Wirusy kardiotoksyczne	Wirus grypy, HIV
Wirusy ACE2-tropowe	Koronawirusy (SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2)

Dadashi i inni w metanalizie podsumowali dotychczasowe doniesienia kliniczne dotyczące występowania wirusów u pacjentów chorujących na ZMS. Według przedstawionych danych najczęściej występującymi wirusami występującymi podczas ZMS są parwovirus B19, enterowirusy, HHV-6, HCV, adenowirusy, cytomegalowirus, wirus Ebsteina-Barra czy wirus grypy². Wśród opisanych w literaturze doniesień dotyczących ZMS wykrywano u pacjentów również: SARS-CoV-2³, wirusa świnki⁴, HCV⁵, VZV⁶ i innych.

Obecnie nie ma jednoznacznej rekomendacji dotyczącej zakresu wykonywanych badania obecności genomu wirusowego w tkankach mięśnia sercowego. W wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego wymienia się następujące wirusy: parwovirus B19, HHV-4 (EBV), HHV-6, enterowirusy, adenowirusy i coxsackiewirusy⁷. Warto jednak zauważyć, że coxsackiewirusy należą do enterowirusów. Racjonalnym wydaje się jednak uwzględnienie wirusów występujących najczęściej, a także typowych dla sytuacji epidemicznej.

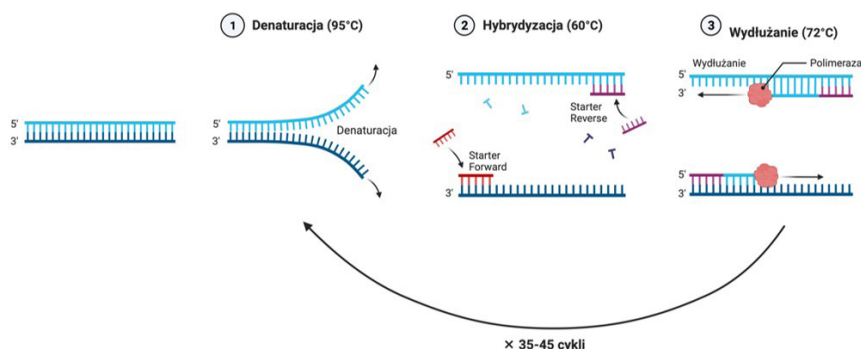
3. Metody oparte o łańcuchową reakcję polimerazy (PCR)

Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR, ang. *polymerase chain reaction*) to metoda oparta na amplifikacji kwasów nukleinowych z wykorzystaniem enzymu polimerazy DNA. Jest to najbardziej czuła i jednocześnie najpowszechniej stosowana metoda wykrywania wirusów. Do wykrycia detekcji wykorzystać można dowolny materiał pochodzący od pacjenta, w przypadku diagnostyki mięśnia sercowego rekomenduje się jednak wykorzystanie wycinka biopsji miokardium⁷. W doniesieniach literaturowych pojawia się również możliwość detekcji w surowicy⁸ czy w aspiracie tchawiczym⁹. Wycinki tkankowe poddawane są w pierwszej kolejności homogenizacji. Z pobranego materiału izoluje się kwasy nukleinowe (RNA i DNA). W przypadku RNA-wirusów izolat przed wykonaniem reakcji należy poddać odwrotnej transkrypcji, czyli przepisać RNA na cDNA. Tak przygotowany materiał można poddać reakcji PCR.

Do detekcji wirusów możemy wykorzystać różne odmiany PCR – klasyczny (w tym nested PCR), qRT-PCR czy dPCR. Specyfika każdej z metod została omówiona w kolejnych podrozdziałach. We wszystkich metodach stałe pozostaje jednak mechanizm reakcji. Próbkę musimy mieszać z polimerazą umieszczoną w odpowiednim buforze, fosforanami nukleotydów (dNTPs, ang. *deoxynucleotide triphosphates*) oraz sekwencjami starterowymi (ang. *primers*). Spośród omówionych składników największą uwagę należy zwracać na sekwencje starterowe, czyli krótkie oligonukleotydy (zwykle 15-25 pz) specyficzne wobec genomu wirusa, którego detekcję przeprowadzamy w reakcji.

Do reakcji należy dodać dwie sekwencje – *forward* i *reverse* dla nici sensownej i antysensownej. Nie istnieje jeden przepis na sprawdzenie prawidłowości stosowanych sekwencji, lecz z pewnością warto upewnić się, że wykorzystywana sekwencja jest specyficzna wobec genomu konkretnego wirusa np. porównując w bazie NCBI nucleotide¹⁰ oraz testując z wykorzystaniem narzędzia BLASTn¹¹.

Reakcja PCR polega na powtórzeniu 35-45 razy sekwencji następujących po sobie etapów: (1) denaturacji, podczas której pod wpływem wysokiej temperatury dochodzi do rozplecenia podwójnej nici DNA, (2) hybrydizacji, podczas której dochodzi do przyłączania się komplementarnych sekwencji starterowych (jeśli w próbce nie występują takie sekwencje to hybrydizacja nie zajdzie i reakcja zostanie zatrzymana) oraz (3) elongacji podczas której dojdzie do wydłużania przez polimerazę nici począwszy od sekwencji starterowej. Rycina 1 przedstawia schematycznie przebieg procesu.



Ryc. 1 Schematyczne przedstawienie przebiegu łańcuchowej reakcji polimerazy. Przygotowane z wykorzystaniem BioRender.com.

3.1. Klasyczna reakcja PCR (w tym nested PCR)

Klasyczny PCR to najstarsza z dostępnych odmian PCR stosowanych do wykrywania kwasów nukleinowych wirusów. W przypadku tej reakcji nie detekcja odbywa się po przeprowadzeniu reakcji poprzez wykonanie elektroforezy w żelu agarozowym i porównanie lokalizacji prążka z wzorcem (tzw. drabiną). Potwierdzenie obecności prążka w spodziewanej lokalizacji (zależnej od długości amplikonu) pozwala potwierdzić obecność wirusa w próbce. Metoda nie pozwala dokonać oceny ilościowej. Dawniej metoda była powszechnie stosowana^{12, 13}, obecnie raczej odchodzi się od niej na rzecz nowszych technik.

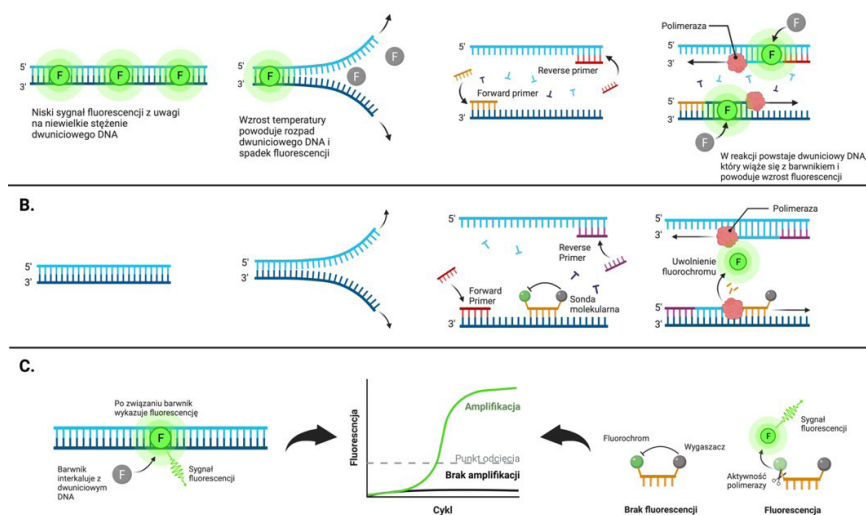
Jej odmianą jest *nested* PCR (ang. *nested* – zagnieżdżony). Od klasycznej reakcji PCR różni się ona stosowaniem dwóch par sekwencji starterowych – pierwsza zaprojektowana jest na dłuższy fragment (np. 1000 pz), a drugi na krótszy fragment (np. 200 pz). Krótszy fragment musi zawierać się we fragmencie dłuższym. Metoda pozwala zwiększyć czułość (wykrywany fragment powielany jest podwójnie), a także specyficzność (w reakcji biorą udział cztery specyficzne sekwencje starterowe zamiast dwóch). W porównaniu z klasycznym PCR jest nieco droższa i nieco trudniejsza w przygotowaniu.

3.2. qRT-PCR

Ilościowy PCR w czasie rzeczywistym (qRT-PCR, ang. *quantitative real time polymerase chain reaction*) to modyfikacja klasycznej PCR poprzez wykonywanie w trakcie jej trwania pomiarów fluorescencji. Żeby pomiar był możliwy termocykler musi być wyposażony w specjalistyczną aparaturę optyczną, a w skład mieszaniny muszą wchodzić składniki odpowiadające za wzrost fluorescencji wraz z powstawaniem produktu. qRT-PCR stanowi obecnie złoty standard w diagnostyce wirusologicznej.

W tej metodzie dysponujemy kilkoma metodami pozwalającymi uzyskać wzrost fluorescencji wraz z tworzącym się produktem. Do najczęściej stosowanych należą barwniki interkalujące oraz sondy hybrydizacyjne typu *TaqMan*. Barwniki interkalujące (np. SYBR Green lub EvaGreen) wykazują fluorescencję wyłącznie po związaniu się z dwuniciowym DNA. Ze względu na to, że wyjściowe stężenie dwuniciowego DNA w próbce jest niewielkie, dlatego sygnał na początku reakcji jest bardzo słaby. Jeśli w trakcie reakcji dojdzie do namnożenia produktu to ilość dwuniciowego DNA wzrośnie – wzrośnie więc również sygnał fluorescencji. W przypadku sond hybrydizacyjnych wykorzystujemy sekwencję specyficzną do fragmentu DNA znajdującego się pomiędzy sekwencjami starterowymi (czyli sekwencję zawierającą się w namnażanym produkcie). Takie sekwencje podczas reakcji PCR ulegają hybrydizacji, czyli przyłączeniu do komplementarnej sekwencji w matrycy. Następnie polimeraza wbudowuje je do powstającego amplikonu. Jednocześnie z uwagi właściwości hydrolazy, polimeraza ma możliwość hydrolizować cząsteczki przyłączone na końcach sondy. W przypadku sond *TaqMan* do jednego końca sondy przyłącza się substancję fluorescencyjną (np. pochodną fluoresceiny), a do drugiego wygaszacz. Jeśli znajdują się one w bliskim sąsiedztwie (około 20 pz) to barwnik fluorescencyjny po wzbudzeniu nie emituje światła, lecz przekazuje energię na wygaszacz (na skutek zjawiska FRET). Po zhydrolizowaniu i oddaleniu ich

od siebie zjawisko przestaje zachodzić i pojawia się fluorescencja. Tym samym z każdą wbudowaną cząsteczką sondy w roztworze pojawia się większa ilość aktywnego (zdolnego do fluorescencji) barwnika, a więc fluorescencja próbek wzrasta. Schemat działania barwnika interkalującego i sondy hybrydazyjnej przedstawia Ryc. 2.



Ryc. 2 Schemat działania barwnika interkalującego i sondy molekularnej. A.) Mechanizm działania barwnika interkalującego. Barwnik wiąże się z dwuniciowym DNA i pojawia się sygnał fluorescencji. B.) Mechanizm działania sondy molekularnej TaqMan. Na skutek aktywności polimerazy barwnik ulega hydrolizie i przechodzi do roztworu. Pojawia się sygnał fluorescencji. C.) Oba mechanizmy prowadzą do pojawienia się sygnału, jeśli w próbce obecny jest badany gen (np. wirusa). Przygotowane z wykorzystaniem BioRender.com.

W porównaniu do klasycznej reakcji PCR możliwa staje się detekcja produktu bezpośrednio w trakcie reakcji, co znacząco zwiększa szybkość uzyskania wyniku. Jednocześnie przy zastosowaniu sond molekularnych zwiększamy specyficzność reakcji oraz uzyskujemy możliwość testowania nawet 5 wirusów w jednej próbce (multipleksowanie). Dodatkowo na bazie oceny zależności fluorescencji od czasu trwania można porównywać poziom ekspresji genu między próbkami (pomiar półilościowy), a stosując wzorzec stężenia genu np. plazmid dokładnie określać liczbę kopii genu w próbce (pomiar ilościowy). Aparaty do qRT-PCR są powszechnie dostępne co zapewnia szeroki dostęp do wykonywanych testów. Niestety metoda posiada również wady – pomiar ilościowy wymaga zachowania bardzo wysokiej precyzji w przygotowaniu reakcji, co czyni go podatnym na błędy. W porównaniu do technologii dPCR

nadal pozostaje pomiarem, w którym nie wykonujemy bezpośredniego pomiaru liczby kopii wirusa, a jedynie odnosimy ją do wzorca.

Zasadniczym problemem obecnie wykonywanych testów PCR jest brak jednoznacznych wytycznych dotyczących wiarygodnych i powtarzalnych metod detekcji do zastosowań kardiologicznych. Dostępne komercyjnie zestawy dedykowane są albo detekcji pojedynczych wirusów^{14, 15}, a jeśli są już dostępne w postaci paneli to pod kątem diagnostyki zakażeń układu oddechowego¹⁶. Ponadto brakuje wytycznych dotyczących wykonywania oznaczeń ilościowych – jednostki w których powinien być podawany wynik oraz metod standaryzacji oznaczeń.

3.3. Cyfrowy PCR

Cyfrowy PCR (dPCR, ang. *digital PCR*) to jeden z najnowszych wariantów metody PCR. W przeciwieństwie do poprzednich odmian pozwala bezpośrednio mierzyć liczbę kopii genu, dodatkowo umożliwia w jednej próbówce jednoczesne wykonanie oznaczeń nawet 12 genów (wirusów). Ideą cyfrowego PCR jest podział reakcji na tysiące drobnych reakcji, które po przeprowadzeniu reakcji poddawane są ocenie na zasadzie obecności lub braku produktu reakcji (na zasadzie analogicznej jak w reakcji qRT-PCR). Następnie wykonywane są obliczenia oparte o rozkład Poissona, których wynikiem jest liczba kopii genu w próbce¹⁷.

Podział mieszaniny reakcyjnej realizowany jest w oparciu o dwie technologie – wykorzystanie układu na chipie z mikronaczyniami reakcyjnymi^{18, 19} lub poprzez zawieszenie mieszaniny reakcyjnej w specjalnym oleju (stworzenie emulsji)²⁰. W pierwszym przypadku odczyt realizowany jest na zasadzie skanowania macierzy reakcji z wykorzystaniem aparatu podobnego do stosowanego przy mikromacierzach, w drugim rozwiązaniu krople przepuszczane są przez aparat skanujący kropla po kropli światłem lasera. Metoda pozwala uzyskać nieporównywalnie większą dokładność w pomiarze ilościowym, a także czułość dochodzącą nawet do 1 kopii genu. Metoda jest nieznacznie droższa, natomiast wymaga kosztownego i obecnie trudno dostępnego sprzętu.

Do tej pory w badaniach kardiologicznych metoda stosowana była w wykrywaniu SARS-CoV-2 w próbkach serca²¹ oraz HHV-6 w surowicy²². Należy się jednak spodziewać rozwoju metody i coraz szerszego stosowania jej w przyszłości.

4. Metody hybrydizacyjne FISH i CISH

Metody hybrydizacyjne FISH i CISH (ang. *fluoresce- / chromogenic in situ hybridization*) są technikami wykorzystującymi sondy molekularne (krótkie oligonukleotydy) komplementarne do genomu wirusa. Sondy są znakowane barwnikiem fluorescencyjnym lub cząsteczką zdolną do przyłączenia enzymu reagującym z chromogenem. Do techniki FISH i CISH wykorzystuje się skrawek biopsji taki sam jak do oceny histologicznej. Po obróbce enzymatycznej skrawek wędruje do pieca hybrydizacyjnego, w którym dodana sonda ulega przyłączeniu do ewentualnego materiału genetycznego wirusa. W przypadku metody FISH próbka oceniana jest następnie w mikroskopie fluorescencyjnym (obecność fluorescencji świadczy o pozytywnym wyniku reakcji). W przypadku metody CISH jest ona następnie traktowana roztworem enzymu przyłączonym do substancji wiążącej się z sondą molekularną (np. przeciwciała przeciw fluoresceinie dla sond znakowanych fluoresceiną lub awidyną dla sond znakowanych biotyną). Następnie do próbki dodaje się chromogen (substrat, który po reakcji z udziałem enzymu daje barwny produkt). Obecność w mikroskopie świetlnym barwnego produktu pozwala stwierdzić obecność wirusa w próbce.

Metoda jest trudna technicznie, szczególnie, że na rynku brak jest dedykowanych odczynników. Ciężko również ocenić czułość metody, jednak prawdopodobnie jest ona niższa niż technik PCR. Ogromną zaletą metody jest jednak możliwość dokładnego określenia lokalizacji materiału genetycznego wirusa z dokładnością do komórki czy nawet konkretnego organellum, a przez to określenia czy infekcja dotyczy kardiomiocytu czy np. komórek śródbłonna.

W opublikowanym zestawieniu² tylko w 3 z 75 metod detekcji wirusów w przebiegu zapalenia mięśnia sercowego, z czego w żadnej nie była to metoda jedyna (we wszystkich podstawową metodą detekcji był PCR). W dwóch z prac badano metodą CISH wszystkie próbki^{23, 24}, a w jednej tylko trzy wybrane biopsje²⁵. Czułość metody wyszła nieznacznie niższa niż PCR, jednak w jednej autorzy podkreślili, że była ona różna w zależności od stosowanej sondy²⁴.

5. Bezpośrednia hodowla wirusów

Tradycyjna diagnostyka chorób wirusowych opiera się na izolacji patogenów wirusa z hodowli komórkowych i do dziś uważana jest za złoty standard w wirusologii, pomimo złożoności i czasochłonności procesu przeprowadzanego

badania. Metoda polega na dodaniu do hodowli komórkowej homogenatu badanej tkanki i obserwowania występowania efektu cytopatycznego świadczącego o namnażaniu się wirusa.

Współczesna diagnostyka laboratoryjna łączy podejścia oparte na metodach hodowlanych i bezpośrednich w celu optymalizacji diagnostyki zakażeń wirusowych, jednakże izolacja wirusa z hodowli komórkowej jest metodą preferowaną, gdy potrzebny jest aktywny (tzw. „żywy”) izolat lub gdy wirus musi być zostać zidentyfikowany, kiedy infekcja nie jest charakterystyczna dla żadnego pojedynczego wirusa²⁶.

Pomimo wysokiej czułości jest rzadko stosowana w diagnostyce ZMS z uwagi na konieczność wykorzystania wysokospecjalistycznych laboratoriów, a także konieczność zabezpieczenia próbek z wykorzystaniem dedykowanego medium (tzw. VTM, ang. *viral transport media*).

6. Metody serologiczne

Diagnostyka serologiczna zakażeń wirusowych polega na ocenie odpowiedzi immunologicznej organizmu poprzez wykrywanie swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko patogenowi lub na wykazaniu obecności wirusa w organizmie poprzez wykrycie jego antygenów, kwasów nukleinowych oraz ich dalszej identyfikacji. W diagnostyce przebiegu ostrego zapalenia mięśnia sercowego oznacza się przeciwciała klasy IgM oraz IgA lub poddaje się ocenie serokonwersję przeciwciał klasy IgM pomiędzy pierwszą a drugą próbką materiału badanego pacjenta za pomocą metod immuno- lub enzymoimmunofluorescencyjnych²⁷.

Metody serologiczne są powszechnie stosowane w praktyce klinicznej, jednak są mniej dokładne i wiarygodne niż inne metody diagnostyczne, wykazując bardzo niską lub zerową korelację²⁸. Ich w zasadzie jedynym plusem jest łatwość wykonania związana z wykorzystaniem jedynie krwi oraz możliwością wykonania w większości laboratoriów szpitalnych.

7. Metody immunohistochemiczne

Detekcja wirusów metodą immunohistochemiczną (IHC) opiera się na inkubacji skrawka biopsji z przeciwciałem specyficznym wobec białka wirusa. Następnie wykorzystuje się znakowane enzymatycznie przeciwciała specyficzne wobec przeciwciała pierwszorzędowego. Preparat następnie traktuje się chromogenem, który wybarwia tkankę w miejscu, gdzie lokalizuje się białko

wirusa. Do głównym zalet metody należy niski koszt i możliwość łatwego zaadaptowania w pracowniach patomorfologii. Metoda raczej stosowana jako uzupełnienie diagnostyki molekularnej niż jej zamiennik. Brakuje jednoznacznych danych dotyczących czułości i specyficzności metody (również z uwagi na różnice we właściwościach dostępnych na rynku przeciwciał). Spośród odnalezionych prac tylko w jednej stosowano IHC jako podstawową metodę detekcji wirusa²⁹.

8. Dyskusja i wnioski

Niewątpliwie nowoczesne metody PCR, czyli qRT-PCR i dPCR pozostaną złotym standardem w diagnostyce wirusowego zapalenia mięśnia sercowego. Należy dołożyć duże starania do stworzenia jednoznacznych wytycznych dotyczących metodologii prowadzenia oznaczeń oraz stworzenia wiarygodnych standardów do kontroli jakości prowadzonych oznaczeń. Należy również dążyć do zastąpienia oznaczeń wyłącznie jakościowych na rzecz ilościowych oraz ujednolicenia jednostek w których podawany jest wynik (np. liczba kopii na µg tkanki).

Metody histologiczne – FISH/CISH oraz IHC stanowią i raczej nadal będą stanowić świetne narzędzie uzupełniające diagnostykę oraz pozwalające określić lokalizację wirusa w tkance. Ich wartość samodzielna jako narzędzia diagnostycznego jest raczej niska z uwagi na trudność kontroli jakości oraz zmienną czułość i swoistość.

Hodowla wirusów posiada wysoką czułość, jednak jest rzadko wykonywana oraz wymaga specjalnego zabezpieczenia próbek, wobec czego raczej nie należy traktować jej jako standardu w kardiologicznej diagnostyce wirusologicznej. Czułość i specyficzność metod serologicznych, pomimo ich szerokiej dostępności, nie pozwala ich na kliniczne zastosowanie w diagnostyce ZMS.

Referencje

1. Tschöpe C, Ammirati E, Bozkurt B, et al. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nature Reviews Cardiology*. 2021/03/01 2021;18(3):169-193. doi:10.1038/s41569-020-00435-x
2. Dadashi M, Azimi T, Faghihloo E. Global study of viral myocarditis: A systematic review and meta-analysis. Systematic review and

- meta-analysis. *Journal of Acute Disease*. January 1, 2020 2020;9(1):1-13. doi:10.4103/2221-6189.276076
3. Blagova O, Ainetdinova DH, Lutokhina YUA, et al. Post-COVID myocarditis diagnosed by endomyocardial biopsy and/or magnetic resonance imaging 2–9 months after acute COVID-19. *European Heart Journal*. 2021;42(Supplement_1):ehab724.1751. doi:10.1093/eurheartj/ehab724.1751
4. Jemail L, Miyao M, Hamayasu H, et al. Fatal Mumps Myocarditis Associated with Left Ventricular Non-Compaction. *Am J Case Rep*. Mar 30 2020;21:e921177. doi:10.12659/ajcr.921177
5. Yamamoto T, Kenzaka T, Matsumoto M, Nishio R, Kawasaki S, Akita H. A case report of myocarditis combined with hepatitis caused by herpes simplex virus. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2018/07/03 2018;18(1):134. doi:10.1186/s12872-018-0869-2
6. Kažukauskienė I, Baltrūnienė V, Jakubauskas A, et al. Prevalence and prognostic relevance of myocardial inflammation and cardiotropic viruses in non-ischemic dilated cardiomyopathy. *Cardiology Journal*. 2022;29(3):441-453. doi:10.5603/CJ.a2020.0088
7. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*. 2021;42(36):3599-3726. doi:10.1093/eurheartj/ehab368
8. Ali M, Abdel-Dayem T. Myocarditis: An expected health hazard associated with water resources contaminated with Coxsackie viruses type B. *International Journal of Environmental Health Research*. 2003/09/01 2003;13(3):261-270. doi:10.1080/0960312031000122415
9. Akhtar N, Ni J, Stromberg D, Rosenthal GL, Bowles NE, Towbin JA. Tracheal Aspirate as a Substrate for Polymerase Chain Reaction Detection of Viral Genome in Childhood Pneumonia and Myocarditis. *Circulation*. 1999;99(15):2011-2018. doi:doi:10.1161/01.CIR.99.15.2011

10. National Library of Medicine. Nucleotide. Accessed 10.07.2022, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>
11. Accessed 10.07.2022, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
12. Bowles Neil E, Ni J, Kearney Debra L, et al. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003/08/06 2003;42(3):466-472. doi:10.1016/S0735-1097(03)00648-X
13. Schowengerdt KO, Ni J, Denfield SW, et al. Association of Parvovirus B19 Genome in Children With Myocarditis and Cardiac Allograft Rejection. *Circulation*. 1997;96(10):3549-3554. doi:-doi:10.1161/01.CIR.96.10.3549
14. Artur Parvovirus B19 Kit. <https://www.qiagen.com/de/products/diagnostics-and-clinical-research/transplant/artus-viral-load/artus-parvo-b19-pcr-kits-ce/>
15. Artur Adenovirus Kit. <https://www.qiagen.com/de-de/products/diagnostics-and-clinical-research/transplant/artus-viral-load/artus-hadv-rg-pcr-kit-ce/>
16. <https://www.certest.es/viasure/>
17. Mao X, Liu C, Tong H, Chen Y, Liu K. Principles of digital PCR and its applications in current obstetrical and gynecological diseases. *Am J Transl Res*. 2019;11(12):7209-7222.
18. Thermo dPCR. Accessed 16.07.2022, <https://www.thermofisher.com/pl/en/home/life-science/pcr/digital-pcr.html>
19. Qiagen dPCR. Accessed 16.07.2022, <https://www.qiagen.com/de-us/applications/digital-pcr>
20. Biorad ddPCR. Accessed 16.07.2022, <https://www.bio-rad.com/en-pl/life-science/digital-pcr>
21. Schultheiss HP, Baumeier C, Aleshcheva G, Bock CT, Escher F. Viral Myocarditis-From Pathophysiology to Treatment. *J Clin Med*. Nov 11 2021;10(22)doi:10.3390/jcm10225240
22. Das BB, Prusty BK. Clinical Relevance of Detection of HHV-6 by PCR DNA Test in the Blood for Diagnosing Myocarditis. *Pediatric Cardiology*. 2016/02/01 2016;37(2):429-430. doi:10.1007/s00246-015-1338-7

23. Kytö V, Vuorinen T, Saukko P, et al. Cytomegalovirus Infection of the Heart Is Common in Patients with Fatal Myocarditis. *Clinical Infectious Diseases*. 2005;40(5):683-688. doi:10.1086/427804
24. Schönian U, Crombach M, Maser S, Maisch B. Cytomegalovirus-associated heart muscle disease. *European Heart Journal*. 1995;16(suppl_O):46-49. doi:10.1093/eurheartj/16.suppl_O.46
25. Koepsell SA, Anderson DR, Radio SJ. Parvovirus B19 is a bystander in adult myocarditis. *Cardiovascular Pathology*. 2012/11/01/2012;21(6):476-481. doi:https://doi.org/10.1016/j.carpath.2012.02.002
26. Leland DS, Ginocchio CC. Role of cell culture for virus detection in the age of technology. *Clin Microbiol Rev*. Jan 2007;20(1):49-78. doi:10.1128/cmr.00002-06
27. Jaguś P, Chorostowska-Wynimko J, Roży A. Diagnostyka wybranych zakażeń wirusowych układu oddechowego. *Pneumonol Alergol Pol* 2010;78(1):47-53.
28. Mahfoud F, Gärtner B, Kindermann M, et al. Virus serology in patients with suspected myocarditis: utility or futility? *European Heart Journal*. 2011;32(7):897-903. doi:10.1093/eurheartj/ehq493
29. Zhang H, Li Y, Peng T, et al. Localization of Enteroviral Antigen in Myocardium and Other Tissues from Patients with Heart Muscle Disease by an Improved Immunohistochemical Technique. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2000/05/01 2000;48(5):579-584. doi:10.1177/002215540004800501

NEUROMONITORING W ANESTEZJOLOGII I INTENSYWNEJ TERAPII – PRZEGLĄD AKTUALNIE DOSTĘPNYCH METOD I ICH ZASTOSOWANIE W PRAKTYCE KLINICZNEJ

MICHAŁ WILK^{1,2} PATRYK WALOCHA²

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

2. Studenckie Koło Naukowe przy Oddziale Klinicznym Kardioanestezji
i Intensywnej Terapii Katedry Anestezjologii, Intensywnej Terapii i Medycyny Ratunkowej,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt:

Precyzyjny nadzór parametrów dotyczących układu nerwowego pacjenta z zastosowaniem dedykowanej aparatury staje się integralną częścią postępowania medycznego w praktyce lekarza anestezjologa – zarówno w stanach nagłych, podczas znieczulenia w przebiegu zabiegów operacyjnych oraz w długoterminowym postępowaniu na oddziale intensywnej terapii. Indeks bispektralny BIS (*ang. bispectral index*), powstający w wyniku odpowiedniego przetworzenia wyniku badania EEG przedstawia w postaci wartości liczbowej aktualny poziom znieczulenia pacjenta. Ułatwia tym samym dawkowanie anestetyków i wykrywanie incydentów niezamierzonej świadomości zarówno podczas zabiegu operacyjnego, jak i przeprowadzania bolesnych, inwazyjnych procedur u pacjentów OIT. Potencjały wywołane stanowią wzorzec aktywności elektrycznej występujący w odpowiedzi na stymulację zewnętrzną nerwu obwodowego określonym bodźcem. Słuchowe potencjały wywołane AEP (*ang. Auditory Evoked Potential*) mogą być stosowane do oceny działania anestetyków. Somatosensoryczne potencjały wywołane SSEP (*ang. Somatosensory Evoked Potential*) pozwalają na równoczesną ocenę obwodowego (włókna nerwowe) i ośrodkowego układu nerwowego (rdzeń kręgowy i mózgowie). Stosowane są w celu wczesnego wykrywania epizodów niedokrwiennych podczas zabiegów chirurgii naczyniowej mogących wpływać na perfuzję mózgu. Motoryczne potencjały wywołane MEP (*ang. Motor Evoked Potential*) są stosowane w ocenie funkcji i integralności ruchowych szlaków nerwowych. W operacjach skoliozy pozwalają na wczesne wykrycie zagrożenia urazem, mają także zastosowanie w diagnostyce chorób demielinizacyjnych. Przeczaszkowa ultrasonografia Dopplerowska TCD (*ang. Transcranial Doppler Ultrasound*) wykazuje potencjał do szerokiego zastosowania klinicznego jako przyłózkowe badanie umożliwiające pozyskanie wielu istotnych parametrów hemodynamicznych dotyczących krążenia mózgowego. Jest ono stosunkowo szybkie, niedrogie oraz nie narażania pacjenta na promieniowanie jonizujące. Interesujący jest także możliwość wzmocnienia trombolizy przez ultradźwięki generowane podczas badania, jednak zagadnienie to wymaga dalszych badań. Celem niniejszego przeglądu było zapoznanie czytelnika z wybranymi, wymienionymi powyżej technikami neuromonitoringu śródoperacyjnego, ze szczególnym uwzględnieniem zasady ich działania oraz potencjalnym zastosowaniem klinicznym.

Słowa kluczowe: neuromonitoring, elektroencefalografia, indeks bispektralny, potencjały wywołane, przeczaszkowa ultrasonografia dopplerowska

Abstract:

Precise supervision of the parameters of the patient's nervous system with the use of dedicated equipment becomes an integral part of the medical procedure in the practice of an anaesthesiologist - both in emergency situations and during anesthesia in the course of surgical procedures or in long-term ICU management. The bispectral index (BIS), resulting from the appropriate processing of the EEG result, represents the patient's current level of anesthesia as a numerical value. Thus, it facilitates the dosing of anesthetics and the detection of incidents of unintentional awareness both during surgery and during painful, invasive procedures in ICU patients. Evoked auditory evoked potentials (AEPs) can be used to evaluate the effects of anesthetics. Somatosensory evoked potentials (SSEPs) allow for the simultaneous assessment of the peripheral (nerve fibers), central nervous system (spinal cord and brain) and are mainly used during vascular surgery procedures that may affect cerebral perfusion for the early detection of ischemic episodes. Motor evoked potentials (MEP) are used in the assessment of the function and integrity of motor nerve pathways - in scoliosis operations they allow for the early detection of the risk of trauma, and are also used in the diagnosis of demyelinating diseases. Transcranial Doppler ultrasonography (TCD) has the potential for wide clinical application as a bedside test that allows to obtain many important hemodynamic parameters related to cerebral circulation in a quick and relatively inexpensive way, without exposing the patient to ionizing radiation. The possibility of amplifying thrombolysis by ultrasound generated during the study is interesting, but this issue requires further research. The aim of this review was to familiarize the reader with the selected techniques of intraoperative neuromonitoring mentioned above, with particular emphasis on their principle of operation and limitations related to clinical application.

Key words: neuromonitoring, electroencephalography, bispectral index, evoked potentials, transcranial Doppler ultrasound

1. Wprowadzenie

Precyzyjny nadzór parametrów dotyczących układu nerwowego pacjenta z zastosowaniem dedykowanej aparatury staje się integralną częścią postępowania medycznego w praktyce lekarza anestezjologa – zarówno w stanach nagłych¹ jak i podczas znieczulenia w przebiegu zabiegów operacyjnych² oraz w długoterminowym postępowaniu na oddziale intensywnej terapii (OIT)³. Na przestrzeni lat wraz z rozwojem technologii powstało wiele technik pozwalających na tego typu kontrolę. Należy jednak pamiętać, że nie zastępują one klasycznej oceny stanu neurologicznego poprzez badanie przedmiotowe – lecz stanowią jego uzupełnienie. Dostępne technologie pozwalają na precyzyjną ocenę konkretnych parametrów – do najważniejszych z nich zaliczyć można: globalną czynność układu nerwowego, integralność szlaków nerwowych oraz właściwości hemodynamiczne mózgowego przepływu krwi.

Mózg stanowi jeden z najważniejszych i zarazem najbardziej wrażliwych narządów naszego organizmu, stąd też wszelkie zaburzenia homeostazy, mogące wystąpić jako następstwo przeprowadzanego zabiegu operacyjnego, niosą ze sobą wysokie ryzyko poważnych, często nieodwracalnych zmian neurologicznych. Duża trudność w badaniu tego organu wynika z uwarunkowań

anatomicznych – czaszka spełniająca funkcję ochronną stanowi trudną do pokonania barierę, jednak rozwój technologii pozwolił na efektywne pokonanie tej przeszkody⁴. Obecnie dostępne metody pozwalają na szybką i nieinwazyjną ocenę kluczowych parametrów hemodynamicznych w czasie rzeczywistym – pozyskane dane są niezwykle ważne w planowaniu dalszego postępowania.

Transfer informacji w układzie nerwowym odbywa się za pomocą impulsów elektrycznych. Dzięki temu możliwa jest zewnętrzna stymulacja odpowiednim ładunkiem elektrycznym, pozwalająca na kontrolę integralności wielu szlaków nerwowych, których uszkodzenie może być wynikiem przeprowadzonego zabiegu operacyjnego. Tego typu powikłania często nie dają natychmiastowych objawów, a gdy staną się symptomatyczne często są już nieodwracalne. Stąd ich wczesne wykrycie za pomocą neuromonitoringu znacznie podnosi bezpieczeństwo operowanego pacjenta.

Znieczulenie pacjenta należy do jednego z podstawowych zadań anestezjologa, na nim spoczywa też odpowiedzialność za dobór adekwatnych dawek leków, które je wywołują. Zbyt niskie mogą stanowić ryzyko epizodów świadomości w trakcie zabiegu lub pobytu na OIT, natomiast nadmierne nasilają działania niepożądane substancji, są także niekorzystne ekonomicznie. Wyrażenie stopnia świadomości w postaci wartości liczbowej przedstawionej w czasie znacząco ułatwia przeprowadzenie tej procedury.

Nasza praca stanowi artykuł przeglądowy, opisaliśmy trzy wybrane metody monitorowania w celu zapoznanie czytelnika z ich historią, zasadą działania oraz co najważniejsze – zastosowaniem praktycznym w postępowaniu klinicznym. Należy nadmienić, że obecnie na rynku dostępnych jest wiele różnych metod neuromonitoringu, a przedstawione poniżej zostały wybrane w celu przekrojowego zarysowania parametrów, które można kontrolować z ich zastosowaniem. Informacje zamieszczone w pracy pochodzą z artykułów dostępnych w bazach PubMed, Google Scholar oraz Scopus. W przeglądzie wykorzystaliśmy łącznie 170 artykułów naukowych i rozdziałów literatury specjalistycznej opublikowanych w języku angielskim i niemieckim w latach 2000 – 2022. Prace sprzed roku 2000 wykorzystaliśmy w celu zarysowania wątku historycznego danego zagadnienia.

2. Podział metod neuromonitorowania

W poniższej tabeli zestawiono aktualnie stosowane nieinwazyjne metod neuromonitoringu. Zostały podzielone ze względu na parametr który kontrolują. Przedstawiono także najważniejsze ograniczenia poszczególnych technik.

Tabela 1. W tabeli przedstawiono wybrane metody neuromonitorowania mające zastosowanie kliniczne. Na podstawie artykułu K. Engelharda⁴

Metoda	Zastosowanie kliniczne	Ograniczenia
EEG / pEEG	Monitorowanie głębokości znieczulenia Wykrywanie śródoperacyjnych napadów niedrgawkowych	Brak rejestracji głębszych partii mózgu Niewystarczająca predykcja niezamierzonej świadomości śródoperacyjnej
EP	Monitorowanie integralności obszarów mózgowia oraz nerwów obwodowych Śródoperacyjne mapowanie nerwów obwodowych	Podatność sygnału na zakłócenia Skomplikowane przygotowanie, wymagane duże doświadczenie
TCD	Pomiar szybkości mózgowego przepływu krwi Wykrywanie zatorów i skurczów naczyń	Niewskazane długotrwałe stosowanie Wyniki w wysokim stopniu zależne od oceny badającego

Wyjaśnienie skrótów:

EEG – Elektroencefalografia, pEEG – Przetworzona elektroencefalografia,

EP (*ang. evoked potentials*) – Potencjały wywołane,

TCD (*ang. transcranial Doppler*) – Przechiaszkowa ultrasonografia Dopplerowska

3. Zastosowanie elektroencefalografii w postaci indeksu bispektralnego BIS (*ang. Bispectral index*)

3.1. Rys historyczny

Aktywność elektryczna mózgu jeszcze 100 lat temu nie była powszechnie znanym faktem. Przełomowego momentu można doszukiwać się w pracach angielskiego uczonego Richarda Catona, który jako pierwszy zaobserwował ją na modelach zwierzęcych w 1875 roku, jednak ówczesna technologia nie pozwalała na uzyskanie zapisu zjawiska⁵. Niewątpliwie do rozwoju EEG przyczynił się także polski neurofizjolog Adolf Beck, który w 1890 roku przedstawił pracę doktorską *Oznaczenie lokalizacji w mózgu i rdzeniu za pomocą zjawisk elektrycznych*. Stosując techniki elektrofizjologii starał się lokalizować poszczególne funkcje sensoryczne żabiego mózgu. Podczas badań zaobserwował

spontaniczne oscylacje nie wywołane stymulacją, które określił mianem *aktywnego prądu niezależnego*.

Co więcej zaobserwował zanik rytmicznej aktywności bioelektrycznej mózgu w odpowiedzi na pobudzenie aferentne (drażnienie nerwu kulszowego, błyski światła skierowane na gałki oczne). Tym samym opisał desynchronizację – jedno z podstawowych zjawisk, które można wyróżnić w obrazie EEG^{6,7}.

W 1927 roku niemiecki psychiatra Hans Berger jako pierwszy przeprowadził przełomowe, zakończone sukcesem, nieinwazyjne badanie EEG u człowieka. W 1929 roku opublikował pracę w której użył pojęcia fal alfa i beta w odniesieniu do uzyskanego zapisu aktywności. W dalszych latach przeprowadzał badanie EEG u swoich pacjentów, podczas którego obserwował zmiany w obrazie fal mózgowych w czasie snu, aktywności umysłowej oraz w obszarze odpowiadającym lokalizacji guza mózgu⁸.

3.2. EEG - zasada działania

Elektroencefalografia stanowi wykreślaną w czasie, graficzną reprezentację różnic w napięciu pomiędzy dwoma różnymi lokalizacjami w obrębie mózgu⁹ rejestrowaną pośrednio za pomocą elektrod umieszczonych na skórze czaszki. Powierzchniowy obraz EEG jest wynikiem potencjałów wytwarzanych poprzez fluktuacje aktywności bioelektrycznej dużych populacji neuronów korowych. Wspomniane zewnątrzkomórkowe przepływy prądu są z kolei skutkiem sumowania przestrzennego potencjałów postsynaptycznych komórek nerwowych¹⁰. W obecnych systemach EEG dane można pozyskiwać z różnej liczby elektrod – od 4 (m.in. w ocenie indeksu bispektralnego) do nawet 256 (EEG o wysokiej gęstości)¹¹. Są one przymocowane do powierzchni skóry czaszki, z użyciem przewodzącego żelu lub collodionu (rodzaj kleju), gdy przewidywane jest długotrwałe monitorowanie. Ich rozmieszczenie zależy od rodzaju wybranej metody badania – wyróżnić można powszechnie uznawane metody rozmieszczenia: 10-20 oraz 10-10¹². W kontroli, opisanego w dalszej części, indeksu bispektralnego (BIS) cztery elektrody są umieszczane bezpośrednio na czole pacjenta¹³.

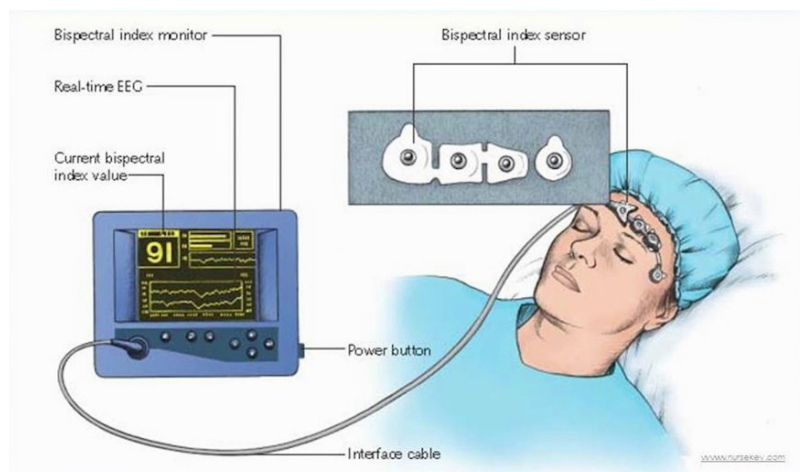
3.3. Kontrola głębokości znieczulenia ogólnego z wykorzystaniem kontroli Indeksu bispektralnego (BIS)

Na przestrzeni lat wykazano istotne korelacje między podażą leków stosowanych w znieczuleniu ogólnym a zmianami obrazu EEG u pacjenta¹⁴⁻¹⁶.

Jednak ze względów praktycznych badanie to nie znalazło w swojej pierwotnej formie zastosowania podczas rutynowych zabiegów operacyjnych. Do kluczowych ograniczeń zaliczano m.in.: konieczność dużego doświadczenia w interpretacji wyniku, wysoki koszt aparatury, długi czas przygotowania urządzenia, zmienności międzyosobnicze oraz brak danych względem których można byłoby odnieść uzyskany wynik. Technologia BIS (*ang. Bispectral index*) zaliczana do technik pEEG (*ang. Processed EEG*) zatwierdzona przez FDA w 1996 roku jako pierwsza pozwoliła na praktyczne zastosowanie techniki EEG do oceny głębokości znieczulenia w praktyce klinicznej¹⁷.

Sensor stosowany w kontroli BIS składa się z 4 samoprzylepnych elektrod chlorosrebrowych umieszczanych na czole pacjenta (rycina 1.) w sposób zgodny z międzynarodowym systemem rozmieszczenia (wg standardu 10-20). Trzy z odprowadzeń zbierają sygnał EEG, czwarta elektroda (uziemia) bada aktywność EMG (elektromiograficzną) mięśnia potyliczno-czołowego. Zebrane dane po poddaniu odpowiedniemu przetwarzaniu zostają przedstawione na ekranie urządzenia. Do najważniejszych z wyświetlanych parametrów należą: indeks BIS, indeks SQI (*ang. Signal quality index*) oraz wykres zmian BIS w przeciągu godziny. Analiza bispektralna jest empiryczną techniką statystyczną, korzystającą z baz danych zapisów EEG. Umożliwia przedstawienie wielu złożonych parametrów badania EEG odnoszących się do czasu i częstotliwości w postaci indeksu przyjmującego wartości od 0 (brak aktywności mózgu) do 100 (badany przytomny i zorientowany).

Dla przytomnego pacjenta nie poddanego premedykacji wartość BIS wynosi ≥ 93 . Utrata pamięci z przebiegu znieczulenia występuje już przy wartościach 75 – 80¹⁸. Reakcja na polecenia słowne jest obecna, gdy BIS wynosi powyżej 60, przy czym pacjent nie pamięta tego zdarzenia co wskazuje że zniesienie pamięci następuje szybciej – przy niższych dawkach anestetyków. Wartość BIS = 60 można uznać za granicę między znieczuleniem zbyt płytkim (gdy > 60) a pożądanym, podczas którego pacjent jest nieprzytomny i nie zapamięta przebiegu procedury (gdy < 60)¹⁷. Przykładowa zalecana wartość BIS w przebiegu znieczulenia ogólnego w fazie podtrzymania wynosi 45 – 60 oraz 75 w ciągu ostatnich 15 minut zabiegu¹⁸.



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono miejsce umieszczenia elektrod oraz monitor z podstawowymi parametrami pozyskiwanymi w przebiegu badania indeksu bispektralnego¹⁹

Monitoring BIS ułatwia optymalne dawkowanie anestetyków – ograniczając stosowanie nieadekwatnie wysokich lub niskich stężeń. Pozwala na znacznie dokładniejszą w porównaniu z tradycyjnymi metodami¹³ ocenę działania indukcyjnej dawki propofolu. Pozwala tym samym ograniczyć jego podaż przy jednoczesnym zachowaniu pożądanego efektu farmakologicznego i redukcji działań niepożądanych, w konsekwencji zwiększając bezpieczeństwo znieczulenia pacjentów – szczególnie pediatrycznych i w podeszłym wieku^{20, 21}. Umożliwia także zmniejszenie ryzyka AAGA (ang. *Accidental Awareness During General Anaesthesia*) w przebiegu dożylnego znieczulenia ogólnego^{22, 23} oraz skrócenie czasu nudności pooperacyjnych i rekonwalescencji^{24, 25}. Do ograniczeń metody należą: brak możliwości przewidzenia odruchowej odpowiedzi hemodynamicznej lub ruchowej na stymulację, niemożliwe jest także dokładne wskazanie momentu epizodu świadomości śródoperacyjnej. Wykazano także że zastosowanie techniki znieczulenia ogólnego z zastosowaniem pojedynczego środka znieczulającego (m.in. ketaminy, podtlenku azotu) znacząco obniża wiarygodność i przydatność nadzoru BIS¹⁸. Nie zaobserwowano znaczącego wpływu opioidów na otrzymywany wynik badania^{26, 27}. Wartość BIS nie jest wiarygodna u pacjentów z podejrzeniem uszkodzenia kory mózgu²⁸. Należy nadmienić że kontrola za pomocą BIS w porównaniu ze znieczuleniem wziewnym kontrolowanym na podstawie stężenia gazu końcowowydechowego ETAC (ang. *End-tidal anesthetic-agent concentration*) nie jest lepszą

metodą zapobiegania AAGA – stąd BIS nie powinien stanowić rutynowej metody oceny podczas tego typu znieczuleń²⁹.

Możliwości zastosowania monitorowania BIS jako uzupełnienia kontroli tradycyjnych parametrów świadczących o zniesieniu świadomości pacjenta są bardzo szerokie. Technika ta może być z powodzeniem wykorzystywana w przebiegu wielu rodzajów zabiegów operacyjnych, m.in. kardiochirurgicznych (zmniejszenie częstotliwości zaburzeń hemodynamicznych związanych z podażą anestetyków)³⁰ oraz neurochirurgicznych (w tym wypadku istnieje możliwość umiejscowienia odprowadzeń w okolicy potylicznej gdy uniemożliwiony jest dostęp do czoła pacjenta)³¹.

Metoda może być stosowana z dobrymi wynikami u pacjentów w podeszłym wieku^{32–34} oraz pediatrycznych^{35–37}, przy uwzględnieniu możliwych różnic wynikających z wieku.

BIS może okazać się szczególnie przydatny w następujących przypadkach: (a) jeśli planowane jest zastosowanie znieczulenia regionalnego z zastosowaniem blokady nerwowo-mięśniowej³⁸, (b) u pacjenta znajdującego się w wysokiej grupie ryzyka AAGA, (c) w sytuacji gdy mimo dobrej kontroli MAC (*ang. minimum alveolar concentration*) występują znaczne wahania ciśnienia tętniczego krwi⁴ oraz (d) u pacjenta z urazem neurologicznym lub zaburzeniami neurologicznymi ograniczającymi jego przytomność³⁹.

3.3. Zastosowanie monitorowania BIS na oddziale intensywnej terapii

Zastosowanie monitorowania BIS na OIT najczęściej ma charakter przewlekły i jest stosowane u pacjentów w stanie krytycznym poddawanych długotrwałej sedacji. Decydując się na zastosowanie tej techniki należy uwzględnić wysokie ryzyko wystąpienia artefaktów związanych ze stosowaniem rozruszników oraz urządzeń służących do ogrzewania pacjenta (mogą zawyżać BIS)⁴⁰.

Stosowanie nieadekwatnych, zbyt wysokich dawek anestetyków w przebiegu długofalowej sedacji istotnie podnosi ryzyko zapalenia płuc związanego z wentylacją zastępczą oraz wydłużenia czasu pobytu na OIT^{41,42}. Zastosowanie monitorowania BIS pozwala na dobranie adekwatnej dawki leku, co skutkuje zmniejszeniem ryzyka powikłań (m.in. osłabienia kurczliwości m. sercowego oraz hipotensji) oraz skróceniem czasu do ekstubacji – są to wymierne korzyści dla pacjenta^{43,44}. Nie bez znaczenia jest także aspekt finansowy, zmniejszenie stosowanych dawek leków pozwala na redukcję kosztów, co ma szczególnie znaczenie w perspektywie długofalowej opieki⁴⁵.

Pacjenci OIT w znieczuleniu TIVA (*ang. Total Intravenous Anesthesia*) poddani blokadzie nerwowo-mięśniowej znajdują się w grupie wysokiego ryzyka AAGA³⁸. Z tego względu kontrola głębokości znieczulenia wydaje się być zasadna. Szczególnie podczas przeprowadzania inwazyjnych zabiegów związanych z dyskomfortem i bólem [np. tracheostomia, bronchoskopia, reintubacja, ułożenie na brzuchu (*ang. Prone position*)]^{46–50}. Podczas oceny BIS pacjenta znajdującego się na OIT należy zwrócić uwagę na fakt iż w przeciwieństwie do zabiegów operacyjnych obarczonych wysoką stymulacją bodźcami bólowymi na oddziale tego typu bodźce te występują rzadziej a ich nasilenie jest mniejsze – przez co głębokość zastosowanego znieczulenia powinna być odpowiednio niższa. Nawet nieinwazyjne czynności związane z opieką nad pacjentem, zakończenie działania NMB (*ang. Neuromuscular Blockade*)⁵¹ oraz różnice międzypersoniczne⁵² mogą powodować znaczne fluktuacje wartości BIS. Zmiany te powinny być uwzględnione w przebiegu długotrwałego znieczulenia – w przeciwnym wypadku istnieje ryzyko narażenia pacjenta na stosowanie nieadekwatnej, nadmiernej sedacji⁵³.

Monitoring BIS na OIT może być z powodzeniem stosowany jako uzupełniająca metoda monitorowania stopnia sedacji u pacjentów w ciężkim stanie klinicznym, szczególnie po rozległych zabiegach operacyjnych (m.in. kardiochirurgicznych)^{54–56}. Na ten moment najbardziej optymalnym zastosowaniem tej metody wydaje się być nadzór znieczulenia u pacjentów OIT w głębokiej sedacji oraz poddanych NMB, chociaż istnieje potencjał w prowadzeniu kontroli płytszej sedacji, który wymaga dalszych badań^{57, 58}.

3.4. Zastosowanie monitorowania BIS w zaburzeniach neurologicznych

Wykazano, że parametr BIS może stanowić dodatkowy wskaźnik progностyczny u pacjentów z ciężkimi urazami mózgowymi oraz po zawale mięśnia sercowego w stanie śpiączki. Wyższe wartości BIS mogą korelować z większą szansą na powrót do zdrowia (ze szczególnym uwzględnieniem stanu neurologicznego)^{59–62}, co zapewne związane jest z możliwością pośredniej oceną uszkodzeń OUN powstałych w wyniku niedotlenienia. Średnia wartość BIS obliczona w ciągu pierwszych 12,5 godzin od przyjęcia na OIT po zawale mięśnia sercowego pozwala na przewidzenie stanu neurologicznego (ocenianego wg *Cerebral Performance Category*) po 6 miesiącach od incydentu⁶³.

BIS można z powodzeniem stosować do monitorowania pacjentów OIT w kierunku wykrywania napadów padaczkowych – zarówno subklinicznych jak i maskowanych w wyniku stosowania NMB. Za przykład można podać

opiekę nad pacjentem z AERRPS (*ang. Acute Encephalitis with Refractory, Repetitive Partial Seizures*) – gdzie metoda ma zastosowanie zarówno w potwierdzeniu diagnozy jak i monitorowania postępów leczenia⁶⁴. Podczas napadu padaczkowego wartości BIS mogą przyjmować skrajne wartości. Stąd ważna jest ocena zmian wartości indeksu w czasie. Nagłe, niewyjaśnione fluktuacje tego parametru mogą odpowiadać napadowi padaczkowemu i stanowić uzasadnienie do dalszej, pogłębionej diagnostyki^{39,65,66}.

3.5. Ograniczenie metody monitoringu BIS

Przetwarzanie sygnału w metodzie BIS odbywa się w odniesieniu do grupy zdrowych ochotników poddawanych znieczuleniu ogólnemu – należy więc uwzględnić wpływ zabiegu i chorób współistniejących na otrzymany wynik. Istotne są także interferencje związane z stosowanymi na oddziale urządzeniami i podawanymi lekami. Niemniej, mimo ograniczeń BIS jako względnie łatwa do zastosowania i nieinwazyjna metoda znalazł zastosowanie w wybranych przypadkach, szczególnie w doborze dawki anestetyków w przebiegu długotrwałej sedacji⁶⁷. BIS jest także stosowany w zbieraniu danych na potrzeby badań naukowych dotyczących dziedziny anestezjologii i intensywnej terapii – gdzie pozwala na obiektywną ocenę stopnia znieczulenia. Parametru o szczególnym znaczeniu w tej dziedzinie medycyny, którego ocena może być szczególnie trudna podczas opieki nad pacjentem zakaźnym, m.in. podczas pandemii SARS-CoV-2^{68–70}.

4. Zastosowanie techniki potencjałów wywołanych

4.1. Rys historyczny

Za prekursora badań nad potencjałami wywołanymi (*ang. Evoked Potentials*) można uznać Dawsona, który już w 1947 roku badał zmiany w obrazie EEG u pacjenta podanego stymulacji za pomocą bodźców czuciowych⁷¹. W kolejnych dekadach badano wpływ innych rodzajów stymulacji, m.in. z zastosowaniem bodźców wzrokowych i słuchowych oraz różnice w wynikach u pacjentów z zaburzeniami neurologicznymi^{72, 73}. W latach 80. XX wieku szczególną uwagę poświęcano słuchowym potencjałom wywołanym (*ang. Auditory Evoked Potentials - AEP*) w ocenie stopnia znieczulenia ogólnego pacjenta^{74–76}.

4.2. Potencjały wywołane EP (ang. Evoked Potentials)

Potencjały wywołane stanowią określony wzorec aktywności elektrycznej występujący i oznaczany w określonej części układu nerwowego (nerw, rdzeń kręgowy, kora mózgowa) w odpowiedzi na stymulację zewnętrzną nerwu obwodowego określonym bodźcem⁷⁷.

EP można w uproszczeniu podzielić na dwie główne grupy^{78, 79}:

- **Sensoryczne potencjały wywołane** (ang. *Sensory Evoked Potentials - SEP*) – gdzie badana jest reakcja układu nerwowego na stymulację danego narządu zmysłu. Do tej grupy należą: słuchowe potencjały wywołane (ang. *Auditory Evoked Potentials - AEP*), wzrokowe potencjały wywołane (ang. *Visual Evoked Potentials - VEP*) oraz somatosensoryczne potencjały wywołane (ang. *Somatosensory Evoked Potentials, SSEP*).
- **Motoryczne potencjały wywołane** (ang. *Motor Evoked Potentials - MEP*), które są wynikiem bezpośredniej lub pośredniej stymulacji kory ruchowej. Badane mogą być na całej długości ruchowych dróg zstępujących, najczęściej jednak badaniu podlega reakcja efektora, który stanowi określony mięsień⁸⁰.

4.3. Słuchowe potencjały wywołane AEP (ang. Auditory Evoked Potentials)

AEP stanowią zmiany w aktywności elektrycznej mózgu wywołane działaniem bodźca dźwiękowego. AEPs nie są widoczne w surowym zapisie EEG – najczęściej stosowaną techniką ich uwidocznienia jest uśrednienie odpowiedzi na identyczny, powtarzalny bodziec zewnętrzny co pozwala na wyodrębnienie zmiennego w czasie obrazu tła. Do oceny działania anestetyków najczęściej stosuje się ocenę słuchowej odpowiedzi o średniej latencji (ang. *Auditory Middle Latency Response - AMRL*) zaliczanej do potencjałów przejściowych, przy których kolejny bodziec jest dostarczany po wygaśnięciu efektu działania poprzedniego⁸¹.

Wykazano, że większość anestetyków stosowanych w przebiegu znieczulenia ogólnego (m.in. halotan, sewofluran, propofol, etomidat) wpływa na AMRL (obniżenie amplitudy i wydłużenie latencji) w sposób zależny od stężenia^{82, 83}. W związku z tym możliwe jest zastosowanie badania AEP w przebiegu kontroli stopnia świadomości znieczulonego pacjenta^{82, 84–86}. Istotne

wyjątki anestetyków, które nie wpływają w znaczący sposób na AMRL stanowią: podtlenek azotu⁸² oraz opioidy⁸⁷.

Badanie AEP wykazuje także potencjał we wczesnym wykrywaniu AAGA^{88–90}. Należy uwzględnić ograniczenia metody (duże zmienności międzyosobnicze, niejasna korelacja wyniku na zdolność zapamiętania zabiegu⁹¹) oraz upewnić się, że bodźce dźwiękowe w sposób prawidłowy docierają do badanego (brak zakłóceń zewnętrznych, zdrowy narząd słuchu, sprawność aparatury)⁸¹. Kombinacja AEP z opisaną powyżej techniką BIS (rycina 2.) znajduje zastosowanie zarówno w opiece nad znieczulonym pacjentem podczas zabiegów przeprowadzonych w trybie ambulatoryjnym⁹² jak i leczonym przewlekle na OIT^{93, 94}.



Rycina 2. Pacjent wyposażony w słuchawki i elektrody czołowe w trakcie znieczulenia kontrolowanego za pomocą akustycznych potencjałów wywołanych (AEP) oraz indeksu bispektralnego (BIS)⁹⁵

4.4. Somatosensoryczne potencjały wywołane SSEP (ang. *Somatosensory Evoked Potentials*)

SSEPs stanowią miarę krótkotrwałej odpowiedzi korowej (z zakrętu zaśrodkowego odpowiadającego za czucie powierzchowne) na przyłożony bodziec elektryczny pobudzający nerw obwodowy⁹⁶. Najczęściej pobudzane są nerwy pośrodkowy i łokciowy gdy SSEP pozyskiwany jest z kończyny górnej oraz odpowiednio nerwy piszczelowy i strzałkowy gdy w badaniu wykorzystywana jest kończyna dolna⁹⁷. Zastosowanie kontroli SSEP znajduje zastosowanie zarówno w nadzorze czynności obwodowego układu nerwowego

(m.in. integralności i funkcji nerwów oraz szlaków somatosensorycznych)^{98, 97} jak i części ośrodkowej (rdzeń kręgowy i mózgowie), gdzie przykładem może być neuromonitoring podczas endarterektomii tętnic szyjnych (*ang. carotid endarterectomy – CEA*). Podczas CEA istnieje ryzyko wystąpienia epizodu niedokrwiennego w mózgu co może skutkować udarem śródoperacyjnym. Ewaluacja ryzyka wspomnianego powikłania nadal pozostaje niejasna⁹⁹, co utrudnia decyzję o zastosowaniu przetoki wewnątrznacyniowej – skutecznej metody zachowania perfuzji aczkolwiek bezwzględnie koniecznej do zastosowania tylko u nielicznych pacjentów. Za klasyczny parametr determinujący konieczność zastosowania wspomnianej interwencji uznaje się wsteczne ciśnienie w tętnicy szyjnej wewnętrznej [*ang. internal carotid artery back pressure („stump pressure”, SP)*], jednak jako pojedyncze kryterium diagnostyczne nie zmniejsza ono istotnie ryzyka epizodu niedokrwiennego¹⁰⁰. Stąd zastosowanie kontroli SSEP jako dodatkowego parametru diagnostycznego wydaje się być zasadne we wczesnym wykrywaniu zaburzeń perfuzji, a jej czułość jest porównywalna z nadzorem z zastosowaniem EEG¹⁰¹, szczególnie w połączeniu z kontrolą SP¹⁰². Metoda ta ma również zastosowanie w innych zabiegach, głównie mózgowo-nacyniowych (m.in. zaopatrywanie zmian nacyniowych w obrębie koła tętniczego Willisa). Do istotnych ograniczeń metody można zaliczyć: (a) konieczność zaangażowania wykwalifikowanego personelu z dużym doświadczeniem oraz (b) ryzyko braku czułości wobec niedokrwienia obszarów nie biorących udziału w generowaniu SSEP⁹⁷.

4.5. Motoryczne potencjały wywołane MEP (*ang. Motor Evoked Potentials*)

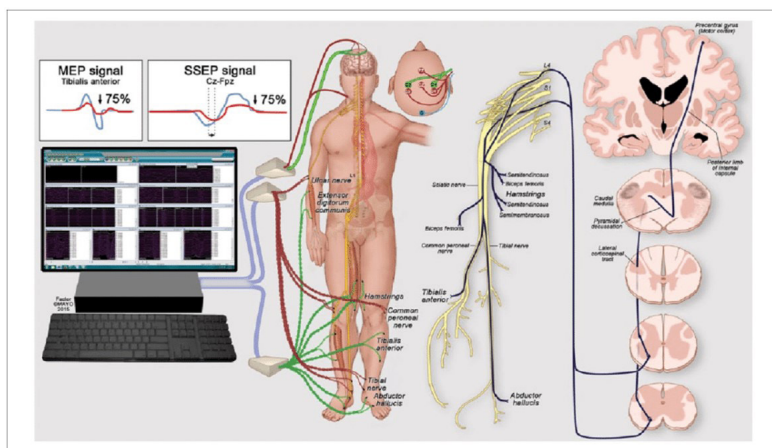
Motoryczne potencjały wywołane (MEP) to sygnały elektryczne rejestrowane ze zstępujących szlaków ruchowych (rdzeń kręgowy, nerwy obwodowe) lub bezpośrednio z mięśni po odpowiedniej stymulacji mózgowych obszarów odpowiadających za kontrolę motoryczną¹⁰³. Mają zastosowanie w monitorowaniu śródoperacyjnym (*ang. Intraoperative Monitoring IOM*)^{104–106} i neurodiagnostyce szlaków ruchowych (m.in. w diagnostyce chorób demielizacyjnych)^{107, 108}. Generowanie MEP odbywa się na drodze przeczaszkowej stymulacji magnetycznej (badania diagnostyczne – pacjent świadomy) lub elektrycznej (zabiegi operacyjne, pacjent ze zniesioną świadomością). Sygnał odbierany jest za pomocą elektrody umieszczonej na powierzchni skóry lub w postaci igły w mięśniu (rycina 3.).

Przewaga kontroli MEP nad SSEP w przebiegu IOM polega na bezpośredniości kontroli szlaków ruchowych, jednak istnieją przypadki, gdy tylko

jedną z metod wykryje śródoperacyjne naruszenie struktur nerwowych. Z tego względu są one stosowane zamiennie, w zależności od charakterystyki danego zabiegu. Przy zastosowaniu metody preferowane jest znieczulenie typu TIA, należy również uwzględnić fakt, iż zastosowanie blokady nerwowo-mięśniowej może uniemożliwić przeprowadzenie badania – stąd konieczność odpowiedniego dostosowania dawki preparatów zwiotczających lub (o ile pozwala na to charakter zabiegu) zrezygnowania z ich zastosowania⁸⁰.

Kontrola MEP stanowi bezpieczną metodę pozwalającą na zmniejszenie ryzyka zaburzeń motorycznych mogących stanowić powikłanie po operacji guzów nadnamiotowych¹⁰⁹. Metoda ma również zastosowanie w operacjach idiopatycznej skoliozy, gdzie pozwala na wczesne wykrycie zagrożenia urazem neurologicznym, szczególnie gdy równocześnie stosowana jest kontrola SSEP¹¹⁰.

Do głównych ograniczeń metody zalicza się: znaczny wpływ anestetyków (szczególnie wziewnych) na wartości MEP w sposób zależny od dawki^{111, 112} oraz brak możliwości przewidzenia deficytów motorycznych związanych z uszkodzeniem niedostatecznie monitorowanych struktur lub powstających po zabiegu operacyjnym¹¹³.



Rycina 3. Ilustracja przedstawiająca umieszczenie elektrod do monitorowania motorycznych potencjałów wywołanych (MEP) oraz somatosensorycznych potencjałów wywołanych (SSEP) podczas operacyjnego opracowania tętniaka aorty piersiowo-brzusznej¹¹⁴

5. Zastosowanie przezczaszkowego badania ultrasonograficznego metodą dopplerowską TCD (ang. *Transcranial Doppler*)

5.1. Rys historyczny

Christian Johann Doppler, austriacki naukowiec, opisał zasadę sygnowaną jego nazwiskiem już w 1843 roku. W 1877 roku bracia Jacques i Pierre Curie odkrywają zjawisko piezoelektryczności, niezwykle istotne, ponieważ opisuje zasadę działania przetworników i głowic emitujących fale dźwiękowe w aparacie ultrasonograficznym. Kolejne odkrycie pomagające ukształtować znane nam dzisiaj USG nastąpiło w 1915 roku. Odkrycia tego dokonał Paul Langevin, fizyk, któremu po zatonięciu Titanica zlecono stworzenie urządzenia wykrywającego obiekty zlokalizowanie na dnie oceanu. Tak właśnie wynalazł hydrofon, który został określony jako „pierwszy przetworniki”. Karl Dusik, austriacko-amerykański neurolog i psychiatra, jako pierwszy zastosował sonogram do diagnostyki medycznej guza mózgu w 1942 roku.

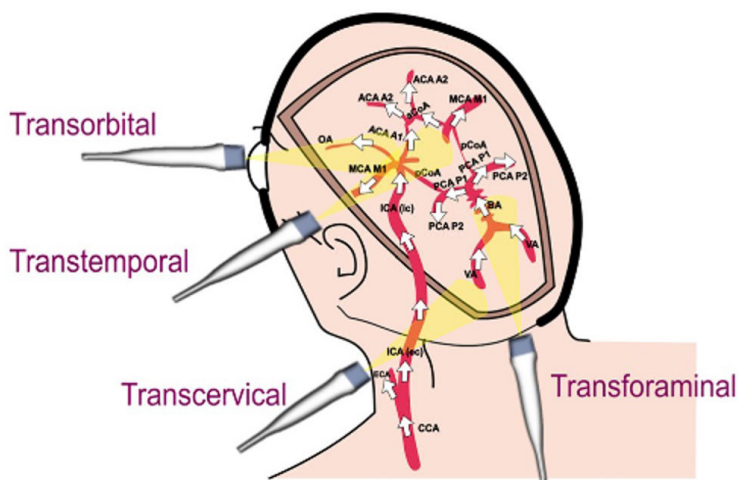
Na przestrzeni lat rozwój technologii USG stał się niezwykle dynamiczny. Za jedno z ważniejszych dokonań można uznać opracowanie urządzenia służącego do ultrasonografii dopplerowskiej i zastosowanie go w diagnostyce obrazowej serca w 1957 roku przez Shigeo Satomura¹¹⁵. Ostatecznie przezczaszkowa ultrasonografia dopplerowska po raz pierwszy została opisana w 1982 r. przez Aaslida i współpracowników^{116–119}.

5.2. Zasada działania

Wysyłana przez głowicę aparatu fala ultradźwiękowa odbija się od elementów morfotycznych krwi (głównie erytrocytów), będących w ruchu w wyniku przepływu krwi w naczyniu krwionośnym. Powracająca do urządzenia odbita fala ma inną częstotliwość niż fala generowana przez aparat – właśnie tę zmianę określa efekt Dopplera. Na podstawie analizy odebranych danych uzyskiwane są informacje o względnej prędkości i kierunku przepływu krwi w naczyniu, które mogą zostać przedstawione graficznie w skali kolorystycznej (ang. *Color Doppler*)^{120, 121}.

Podczas wykonywania TCD istotne jest uwzględnienie kąta przyłożenia głowicy - kąt powyżej 30 stopni może znacząco wpłynąć na odczyt prędkości przepływu oraz częstotliwości generowanej fali - w TCD stosuje się częstotliwość równą 2 Hz, gdyż wyższe wartości nie penetrują kości czaszki.

Do głównych okien akustycznych mających zastosowanie w praktyce klinicznej należą: (a) przeskroniowe, (b) przezczodołowe, (c) podżuchwowe oraz (d) podpotyliczne (rycina 4.). Najważniejsze naczynia krwionośne oceniane podczas badania to: MCA (*ang. Middle Cerebral Artery*), ACA (*ang. Anterior Cerebral Artery*), PCA (*ang. Posterior Cerebral Artery*), OA (*ang. Ophthalmic Artery*), BA (*ang. Basilar Artery*) oraz VA (*ang. Vertebral Artery*)¹²².



Rycina 4. Schemat tętniczego krążenia mózgowego, z uwzględnieniem kierunku przepływu krwi i najważniejszymi oknami akustycznymi stosowanymi w badaniu TCD¹²³

6. Zastosowanie TCD w praktyce klinicznej

Badanie TCD wykazuje znaczny potencjał do szerokiego zastosowania klinicznego jako badanie przyłózkowe. Wynika to z możliwości pozyskania wielu cennych parametrów hemodynamicznych dotyczących krążenia mózgowego w szybki i stosunkowo niedrogi sposób, bez narażania pacjenta na promieniowanie jonizujące¹²⁴.

TCD jest szczególnie użyteczne w opiece nad pacjentem z udarem niedokrwiennym mózgu, gdzie przeprowadzane w sposób ciągły lub powtarzalny pozwala z dużą czułością na ocenę przebiegu okluzji naczynia i ocenę możliwości spontanicznej lub indukowanej rekanalizacji¹²⁵. Informacje te pozwalają na wiarygodną ocenę stanu pacjenta oraz efektów przeprowadzonego leczenia.

Ułatwiają także decyzję dotyczące dalszego postępowania terapeutycznego^{126–129}. Dane uzyskane z TCD dotyczące lokalizacji, stopnia okluzji

naczyniowej oraz czasu po jakim doszło do rekanalizacji wykazują istotne znaczenie prognostyczne^{130, 131}. Wstępne badania wskazują także na możliwość wzmacniania przez ultradźwięki procesu konwencjonalnej trombolizy^{132–134} lub tej z zastosowaniem tzw. bąbelków akustycznych w urządzeniu mikroprzepływowym¹³⁵. Mimo, że zagadnienie to wymaga dalszych badań a charakter zjawiska jest nadal niejasny z pewnością posiada ono duży potencjał z uwagi na obiecujące zastosowanie w praktyce klinicznej¹³⁶.

Wazospazm naczyńia mózgowego (*ang. Cerebral Vasospasm VSP*) skutkujący epizodem niedokrwinnym jest częstym powikłaniem krwotoku podpajęczynówkowego (*ang. Subarachnoid Hemorrhage - SAH*), który może odpowiadać za nawet połowę wszystkich zgonów u pacjentów, którzy przeżyli pęknięcie tętniaka i proces leczenia¹³⁷. TCD wykazuje obiecujący potencjał w diagnostyce VSP^{126,138–141}. Przyjęte kryteria rozpoznania VSP za pomocą TCD wykazują największą wiarygodność w odniesieniu do MCA i BA. Najlepsze wyniki uzyskiwana są przy zastosowaniu cyklicznego badania stanu naczyń po epizodzie SAH w celu szybkiego wdrożenia leczenia^{122, 137}. Podczas interpretacji wyniku należy uwzględnić wpływ zmiennych takich jak: problemy techniczne, wiek, ciśnienie śródczaszkowe, MAP, hematokryt, tętniczne ciśnienie parcjalne CO₂ oraz potencjalne krążenie oboczne – ponieważ mogą one wpływać na odczytywaną prędkość przepływu^{142, 143}.

Stenookluzyjna choroba naczyń wewnątrzczaszkowych (*ang. Intracranial Steno-Occlusive Disease*) stanowi istotny czynnik ryzyka udaru niedokrwinnego oraz przemijającego ataku niedokrwinnego (*ang. Transient Ischemic Attack TIA*)^{144, 145}. TCD pozwala na diagnostykę stenozy i okluzji tętnic mózgowych^{126,142,146}, umożliwia także ocenę obocznego krążenia mózgowo-rdzeniowego¹⁴⁷. Kryteria stenozy przekraczającej 50% średnicy naczyńia obejmują: (a) zwiększenie prędkości przepływu w obrębie zwężonego odcinka, (b) zmniejszenie prędkości przepływu dystalnie względem zajętego odcinka, (c) różnice w średniej prędkości przepływu przed i za zmienionym fragmentem oraz (d) zaburzenia charakteru przepływu (przepływ turbulentny, szmery)¹²⁵. Okluzja naczyńia objawia się w badaniu całkowitym brakiem przepływu. TCD stanowi tanią, szybką i uznaną metodę obrazowania zaburzeń przepływu w obrębie naczyń mózgowych, której przewaga nad metodami MRI oraz CT polega na możliwości wielokrotnego powtórzenia badania w krótkim czasie co pozwala na łatwiejszą ocenę ewolucji zaburzeń hemodynamicznych, wpływu terapii oraz potencjalnego zagrożenia udarem¹⁴⁸.

Anemia sierpowata (*ang. Sickle Cell Disease SCD*) jest związana z chroniczną hemolizą skutkującą obniżeniem stężenia hemoglobiny we krwi.

Przewlekła niedokrwistość i hipoksja mogą przyczyniać się do powstawania stanu zapalnego śródbłonna naczyniowego - powodując stenozę mózgowych naczyń krwionośnych co istotnie podnosi ryzyko udaru niedokrwinnego mózgu¹⁴⁹⁻¹⁵¹. TCD okazuje się bardzo użyteczne podczas terapii dzieci chorujących na SCD, u których stosowane są okresowe transfuzje krwi mające na celu obniżenie stężenie hemoglobiny S¹⁵². Wdrożenie transfuzji oparte na pomiarze prędkości przepływów w naczyniach mózgowych skutkowało znacznym zmniejszeniem ryzyka wystąpienia udaru niedokrwinnego w badanej grupie pacjentów pediatrycznych w badaniu klinicznym STOP (*ang. Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Disease*)¹⁵³. W innym badaniu kohortowym wykazano istotny spadek mózgowych incydentów niedokrwiniennych u dzieci z SCD u których prowadzono screening z zastosowaniem TCD i profilaktyczne transfuzje krwi¹⁵⁴. Diagnostyka przy użyciu TCD ma istotny pośredni wpływ na zmniejszenie śmiertelności chorych na SCD¹⁵², należy jednak pamiętać, że nie sprawdzi się podczas nagłego zaostrzenia choroby gdyż czynniki takie jak hipoksja, hipoglikemia i gorączka istotnie wpływają na wynik badania¹⁴⁹.

TCD jest w stanie wykrywać w czasie rzeczywistym mikrozatory (zarówno stałe jak i gazowe) obecne w krążeniu mózgowym m.in. u pacjentów z rozpoznanymi: zawałem niedokrwinnym serca, zwężeniem tętnic szyjnych, migotaniem przedsionków lub mechanicznymi zastawkami serca.

Zastosowanie TCD w ocenie obecności mikrozakrzepów pozwala na ocenę skuteczności leczenia przeciwwzakrzepowego u chorych ze zwężeniem światła tętnic szyjnych^{155, 156} oraz wskazywać asymptomatycznych pacjentów z dużym ryzykiem udaru. Może także ułatwić decyzję o konieczności wykonania endarterektomii¹⁵⁷ w celu zmniejszenia ryzyka powikłań¹⁵⁸ we wspomnianej grupie chorych. Metoda wykazuje potencjał w ocenie stanu nadkrzepliwości u pacjentów z rozpoznaniem COVID-19¹⁵⁹ oraz u chorych na nadpłytkowością samoistną¹⁶⁰, jednak wymagane są dalsze badania zastosowań w tych stanach klinicznych.

Warto wspomnieć również o zastosowaniu TCD jako narzędzia diagnostycznego pozwalającego na ciągły pomiar przepływu krwi w naczyniach mózgowych stosowanego w badaniach dotyczących autoregulacji mózgowego przepływu krwi^{161, 162}. Wykazano użyteczność pomiaru powyższego parametru skojarzonego z wartościami średniego ciśnienia tętniczego w badaniu zaburzeń autoregulacji u chorych po przeżytym udarze niedokrwinnym mózgu, jednak metodologia tego zastosowania wymaga standaryzacji dla uzyskania danych o wyższej jakości¹⁶³⁻¹⁶⁵. Badanie TCD wykorzystywane jest także

w badaniach nad mózgowymi zmianami hemodynamicznymi¹⁶⁶ i obecnością mikrozatorów¹⁶⁷ u pacjentów w chorobami otępiennymi.

7. Ograniczenia metody

Do głównych ograniczeń metody TCD należą: (a) duża zależność od doświadczonego operatora, który musi posiadać szczegółową wiedzę na temat anatomii mózgowych naczyń krwionośnych i jej możliwych wariantów w badanej populacji¹⁶⁸, (b) wpływ innych czynników (wiek, płeć, wartość hematokrytu, pCO₂ krwi tętniczej, grubość kości czaszki) na pomiar prędkości przepływów, (c) ograniczenie pomiarów do dużych tętnic podstawnych krążenia mózgowego¹⁶⁹.

8. Podsumowanie

W rękach doświadczonego anestezjologa przedstawione techniki neuromonitorowania są w stanie przyczynić się do poprawy rezultatów klinicznych z wymierną korzyścią dla pacjenta. Kontrola BIS przedstawiającego poziom znieczulenia pacjenta w postaci wartości liczbowej pozwala na zmniejszenie incydentów świadomości śródoperacyjnej – traumatycznego przeżycia, wpływającego negatywnie na stan psychiczny pacjenta¹⁷⁰. Możliwe jest również bezpieczne stosowanie niższych dawek anestetyków, przez co spada ryzyko poważnych działań niepożądanych – szczególnie u pacjentów pediatrycznych i w podeszłym wieku, nie bez znaczenia jest także aspekt ekonomiczny. Badanie potencjałów wywołanych jest szczególnie użyteczne, gdy podczas zabiegu operacyjnego na uszkodzenie narażone są nerwy obwodowe i rdzeń kręgowy – zarówno jako system ostrzegający chirurga przed zbliżeniem narzędzia w okolicie monitorowanej struktury jak i do oceny jej funkcji. Pozwala to na zmniejszenie ryzyka uszkodzeń mogących skrajnie zakończyć się niepełnosprawnością pacjenta. Z kolei Doppler przezczaszkowy pozwala na szybką, nieinwazyjną, przyłóżkową ocenę mózgowego przepływu krwi bez konieczności narażania pacjenta na działanie promieniowania jonizującego. Oprócz znaczenia diagnostycznego, duże znaczenie może mieć wpływ fal ultrasonograficznych na proces trombolizy. Opisane metody nie są stosowane rutynowo, głównie ze względów finansowych. Jednak ich użycie w szczególnych wskazaniach, przy znajomości ich ograniczeń, znacząco ułatwia opiekę nad pacjentem, wybór właściwego postępowania terapeutycznego oraz ocenę rokowania. Podnoszą także bezpieczeństwo pacjentów poddawanych zabiegom operacyjnym

obarczonych ryzykiem powikłań neurologicznych. Ocena przydatności wielu z nich w konkretnych przypadkach klinicznych jest tematem prowadzonych aktualnie, licznych prac naukowych.

Referencje

1. Demertzi A, Laureys S. *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine 2011*. Vol 1.; 2011. doi:10.1007/978-3-642-18081-1
2. Murkin JM. Perioperative multimodality neuromonitoring: An overview. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2004;8(2):167-171. doi:10.1177/108925320400800207
3. Schomer AC, Hanafy K. Neuromonitoring in the ICU. *Int Anesthesiol Clin*. 2015;53(1):107-122. doi:10.1097/AIA.000000000000042
4. Engelhard K. Non-invasive neuromonitoring in anaesthesia. *Anesthesiol und Intensivmed*. 2021;62(9):410-416. doi:10.19224/ai2021.410
5. Spillane JD. A Memorable Decade in the History of Neurology 1874-84-1. *Br Med J*. 1974;4(5946):701-706. doi:10.1136/bmj.4.5946.701
6. Coenen A, Zayachkivska O. Adolf Beck: A pioneer in electroencephalography in between Richard Caton and Hans Berger. *Adv Cogn Psychol*. 2013;9(4):216-221. doi:10.5709/acp-0148-3
7. Coenen A, Zajachkivsky O, Bilski R. In the footsteps of Beck: The desynchronization of the electroencephalogram. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1998;106(4):330-335. doi:10.1016/S0013-4694(97)00126-0
8. İnce R, Adanır SS, Sevmez F. The inventor of electroencephalography (EEG): Hans Berger (1873–1941). *Child's Nerv Syst*. 2021;37(9):2723-2724. doi:10.1007/s00381-020-04564-z
9. Olejniczak P. Neurophysiologic basis of EEG. *J Clin Neurophysiol*. 2006;23(3):186-189. doi:10.1097/01.wnp.0000220079.61973.6c
10. Brienza M. MO. Neurophysiological Basis of EEG. In: *Clinical Electroencephalography*. Vol 1. ; 2019:9-21. doi:10.1212/wnl.23.7.782

11. Lau TM, Gwin JT, Ferris DP. How Many Electrodes Are Really Needed for EEG-Based Mobile Brain Imaging? 2012;2012(August):387-393.
12. Lara Marcuse, Madeline Fields JYY. *Rowan's Primer of EEG*. Elsevier Inc.; 2015.
13. Medical Advisory Secretariat. Bispectral index monitor: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2004;4(9):1-70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23074459>
14. Schartner M, Seth A, Noirhomme Q, et al. Complexity of multi-dimensional spontaneous EEG decreases during propofol induced general anaesthesia. *PLoS One*. 2015;10(8):1-21. doi:10.1371/journal.pone.0133532
15. Sleight JW, Steyn-Ross DA, Steyn-Ross ML, Williams ML, Smith P. Comparison of changes in electroencephalographic measures during induction of general anaesthesia: Influence of the gamma frequency band and electromyogram signal. *Br J Anaesth*. 2001;86(1):50-58. doi:10.1093/bja/86.1.50
16. Sleight JW, Steyn-Ross DA, Steyn-Ross ML, Grant C, Ludbrook G. Cortical entropy changes with general anaesthesia: Theory and experiment. *Physiol Meas*. 2004;25(4):921-934. doi:10.1088/0967-3334/25/4/011
17. Rosow C, Manberg PJ. Bispectral Index monitoring. *Anesthesiol Clin North America*. 2001;19(4):947-966. doi:10.1016/S0889-8537(01)80018-3
18. Johansen JW. Update on bispectral index monitoring. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2006;20(1):81-99. doi:10.1016/j.bpa.2005.08.004
19. Chalela R, Gallart L, Pascual-Guardia S, Sancho-Muñoz A, Gea J, Orozco-Levi M. Bispectral index in hypercapnic encephalopathy associated with COPD exacerbation: A pilot study. *Int J COPD*. 2018;13:2961-2967. doi:10.2147/COPD.S167020
20. Gürses E, Sungurtekin H, Tomatir E, Dogan H. Assessing Propofol Induction of Anesthesia Dose Using Bispectral Index Analysis. *Anesth Analg*. 2004;98(1):128-131. doi:10.1213/01.ane.0000090314.43496.1d

21. Powers KS, Nazarian EB, Tapyrik SA, et al. Bispectral index as a guide for titration of propofol during procedural sedation among children. *Pediatrics*. 2005;115(6):1666-1674. doi:10.1542/peds.2004-1979
22. Zhang C, Xu L, Ma YQ, et al. Bispectral index monitoring prevent awareness during total intravenous anesthesia: A prospective, randomized, double-blinded, multi-center controlled trial. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124(22):3664-3669. doi:10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.22.012
23. Myles PS, Leslie K, McNeil J, Forbes A, Chan MTV. Bispectral index monitoring to prevent awareness during anaesthesia: The B-Aware randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;363(9423):1757-1763. doi:10.1016/S0140-6736(04)16300-9
24. Mathews DM. Effects of Bispectral Index Monitoring on Ambulatory Anesthesia. *Surv Anesthesiol*. 2005;49(4):177-178. doi:10.1097/01.sa.0000172075.90540.82
25. Nelskylä KA, Yli-Hankala AM, Puro PH, Korttila KT. Sevoflurane titration using bispectral index decreases postoperative vomiting in phase II recovery after ambulatory surgery. *Anesth Analg*. 2001;93(5):1165-1169. doi:10.1097/00000539-200111000-00021
26. Johansen JW, Sebel PS. Development and clinical application electroencephalographic bispectrum monitoring. *Anesthesiology*. 2000;93(5):1336-1344. doi:10.1097/00000542-200011000-00029
27. Koitabashi T, Johansen JW, Sebel PS. Remifentanyl dose/electroencephalogram bispectral response during combined propofol/regional anesthesia. *Anesth Analg*. 2002;94(6):1530-1533. doi:10.1213/00000539-200206000-00028
28. Myles PS, Cairo S. Artifact in the Bispectral Index in a Patient with Severe Ischemic Brain Injury. *Anesth Analg*. 2004;98(3):706-707. doi:10.1213/01.ANE.0000099360.49186.6B
29. Albert Schweitzer Hospital, Lambarene, Gabon, and Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen, Tübingen G. Prevention of Intraoperative Awareness in a High-Risk Surgical Population. *N Engl J Med*. 2011;365:687-696.

30. Puri GD, Murthy SS. Bispectral index monitoring in patients undergoing cardiac surgery under cardiopulmonary bypass. *Eur J Anaesthesiol.* 2003;20(6):451-456. doi:10.1017/S026502150300070X
31. Shiraishi T, Uchino H, Sagara T, Ishii N. A comparison of frontal and occipital bispectral index values obtained during neurosurgical procedures. *Anesth Analg.* 2004;98(6):1773-1775. doi:10.1213/01.ANE.0000121344.69058.09
32. Farag E, Chelune GJ, Schubert A, Mascha EJ. Is depth of anesthesia, as assessed by the Bispectral Index, related to postoperative cognitive dysfunction and recovery? *Anesth Analg.* 2006;103(3):633-640. doi:10.1213/01.ane.0000228870.48028.b5
33. Fahlenkamp A V., Krebber F, Rex S, et al. Bispectral index monitoring during balanced xenon or sevoflurane anaesthesia in elderly patients. *Eur J Anaesthesiol.* 2010;27(10):906-911. doi:10.1097/EJA.0b013e32833d1289
34. Zhou Y, Li Y, Wang K. Bispectral index monitoring during anesthesia promotes early postoperative recovery of cognitive function and reduces acute delirium in elderly patients with colon carcinoma: A prospective controlled study using the attention network test. *Med Sci Monit.* 2018;24:7785-7793. doi:10.12659/MSM.910124
35. Yang N, Zuo MZ, Yue Y, Wang Y, Shi Y, Zhang XN. Comparison of c50 for propofol-remifentanyl target-controlled infusion and bispectral index at loss of consciousness and response to painful stimulus in elderly and young patients. *Chin Med J (Engl).* 2015;128(15):1994-1999. doi:10.4103/0366-6999.161338
36. Berkenbosch JW, Fichter CR, Tobias JD. The correlation of the bispectral index monitor with clinical sedation scores during mechanical ventilation in the pediatric intensive care unit. *Anesth Analg.* 2002;94(3):506-511. doi:10.1097/00000539-200203000-00006
37. Grindstaff RJ, Tobias JD. Applications of bispectral index monitoring in the pediatric intensive care unit. *J Intensive Care Med.* 2004;19(2):111-116. doi:10.1177/0885066603262066

38. Pandit JJ, Andrade J, Bogod DG, et al. 5th National Audit Project (NAP5) on accidental awareness during general anaesthesia: Summary of main findings and risk factors. *Br J Anaesth.* 2014;113(4):549-559. doi:10.1093/bja/aeu313
39. Hajat Z, Ahmad N, Andrzejowski J. The role and limitations of EEG-based depth of anaesthesia monitoring in theatres and intensive care. *Anaesthesia.* 2017;72:38-47. doi:10.1111/anae.13739
40. Andrzejowski J, Sleight JW, Johnson IAT, Sikiotis L. The effect of intravenous epinephrine on the bispectral index and sedation. *Anaesthesia.* 2000;55(8):761-763. doi:10.1046/j.1365-2044.2000.01532.x
41. Sadhasivam S, Ganesh A, Robison A, Kaye R, Watcha MF. Validation of the Bispectral Index monitor for measuring the depth of sedation in children. *Anesth Analg.* 2006;102(2):383-388. doi:10.1213/01.ANE.0000184115.57837.30
42. Kress JP, Pohlman AS, O'Connor MF, Hall JB. Daily Interruption of Sedative Infusions in Critically Ill Patients Undergoing Mechanical Ventilation. *N Engl J Med.* 2000;342(20):1471-1477. doi:10.1056/nejm200005183422002
43. Consales G, Chelazzi C, Rinaldi S, De Gaudio AR. Bispectral Index compared to Ramsay score for sedation monitoring in intensive care units. *Minerva Anesthesiol.* 2006;72(5):329-336. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16675941>
44. Genähr A, Moshirzadeh M, Sidiropoulos A, et al. Bispectral index-guided sedation with dexmedetomidine in intensive care: a prospective, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study. *Crit Care Med.* 2002;30(5):1007-1014. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12006795>
45. Leon A, Lepou   C, Floch T, Schwartz X, Schneider N. Procalcitonin concentrations in blood after long-distance running. *Crit Care.* 2000;4(Suppl 1):P75. doi:10.1186/cc795
46. Bayrak A, Bayır A, Karabulut KU. Effects of thyroid hormones on major cardiovascular risk in acute coronary syndromes. *Crit Care.* 2011;15(S1):1-190. doi:10.1186/cc9421

47. Prottengeier J, Moritz A, Heinrich S, Gall C, Schmidt J. Sedation assessment in a mobile intensive care unit: A prospective pilot-study on the relation of clinical sedation scales and the bispectral index. *Crit Care*. 2014;18(6):1-7. doi:10.1186/s13054-014-0615-9
48. Bould MD, Mahtani DG, Davies R, Roughton M, Hunter DN, Kelleher A. Bispectral index values during elective rigid bronchoscopy: A prospective observational pilot study. *Anaesthesia*. 2007;62(5):438-445. doi:10.1111/j.1365-2044.2007.04986.x
49. Fadaizadeh L, Hoseyni MS, Shajareh E, Heydari G, Ardehali SH. Use of bispectral index score for interventional bronchoscopy procedures. *Tanaffös*. 2015;14(4):246-251.
50. Riker RR, Fraser GL, Simmons LE, Wilkins ML. Validating the sedation-agitation scale with the bispectral index and visual analog scale in adult ICU patients after cardiac surgery. *Intensive Care Med*. 2001;27(5):853-858. doi:10.1007/s001340100912
51. Avidan MS, Palanca BJ, Glick D, et al. Protocol for the BAG-RECALL clinical trial: A prospective, multi-center, randomized, controlled trial to determine whether a bispectral index-guided protocol is superior to an anesthesia gas-guided protocol in reducing intraoperative awareness with explicit. *BMC Anesthesiol*. 2009;9:1-11. doi:10.1186/1471-2253-9-8
52. Frenzel D, Greim CA, Sommer C, Bauerle K, Roewer N. Is the bispectral index appropriate for monitoring the sedation level of mechanically ventilated surgical ICU patients? *Intensive Care Med*. 2002;28(2):178-183. doi:10.1007/s00134-001-1183-4
53. Vivien B, Di Maria S, Ouattara A, Langeron O, Coriat P, Riou B. Overestimation of bispectral index in sedated intensive care unit patients revealed by administration of muscle relaxant. *Anesthesiology*. 2003;99(1):9-17. doi:10.1097/00000542-200307000-00006
54. Short TG, Campbell D, Frampton C, et al. Anaesthetic depth and complications after major surgery: an international, randomised controlled trial. *Lancet*. 2019;394(10212):1907-1914. doi:10.1016/S0140-6736(19)32315-3

55. Alavi SM, Babae T, Fard MZ, Tirgarfakheri K, Bourghani-Farahani E, Bakhshandeh H. Bispectral index monitoring can be an effective method to assess sedation levels after open-heart surgery. *Iran Hear J.* 2021;22(1):49-56.
56. Plaschke K, Fichtenkamm P, Schramm C, et al. Early postoperative delirium after open-heart cardiac surgery is associated with decreased bispectral EEG and increased cortisol and interleukin-6. *Intensive Care Med.* 2010;36(12):2081-2089. doi:10.1007/s00134-010-2004-4
57. Devlin JW, Skrobik Y, Gélinas C, et al. *Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Pain, Agitation/Sedation, Delirium, Immobility, and Sleep Disruption in Adult Patients in the ICU.* Vol 46.; 2018. doi:10.1097/CCM.0000000000003299
58. LeBlanc JM, Dasta JF, Kane-Gill SL. Role of the bispectral index in sedation monitoring in the ICU. *Ann Pharmacother.* 2006;40(3):490-500. doi:10.1345/aph.1E491
59. Schnakers C, Ledoux D, Majerus S, et al. Diagnostic and prognostic use of bispectral index in coma, vegetative state and related disorders. *Brain Inj.* 2008;22(12):926-931. doi:10.1080/02699050802530565
60. Dou L, Gao H, Lu L, Chang W. Bispectral index in predicting the prognosis of patients with coma in intensive care unit. *World J Emerg Med.* 2014;5(1):53. doi:10.5847/wjem.j.issn.1920-8642.2014.01.009
61. Leary M, Fried DA, Gaieski DF, et al. Neurologic prognostication and bispectral index monitoring after resuscitation from cardiac arrest. *Resuscitation.* 2010;81(9):1133-1137. doi:10.1016/j.resuscitation.2010.04.021
62. Seder DB, Fraser GL, Robbins T, Libby L, Riker RR. The bispectral index and suppression ratio are very early predictors of neurological outcome during therapeutic hypothermia after cardiac arrest. *Intensive Care Med.* 2010;36(2):281-288. doi:10.1007/s00134-009-1691-1
63. Stammet P, Collignon O, Werer C, Sertznig C, Devaux Y. Bispectral index to predict neurological outcome early after cardiac arrest. *Resuscitation.* 2014;85(12):1674-1680. doi:10.1016/j.resuscitation.2014.09.009

64. Dahaba AA, Liu DW, Metzler H. Bispectral Index (BIS) monitoring of acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures (AER-RPS). *Minerva Anesthesiol.* 2010;76(4):298-301.
65. Baba R, Ravalias AS. Monitoring seizures with the Bispectral index. *Anaesthesia.* 2004;59(10):1033. doi:10.1111/j.1365-2044.2004.03952.x
66. Chinzei M, Sawamura S, Hayashida M, Kitamura T, Tamai H, Hanaoka K. Change in Bispectral Index during epileptiform electrical activity under sevoflurane anesthesia in a patient with epilepsy. *Anesth Analg.* 2004;98(6):1734-1736. doi:10.1213/01.ANE.0000117282.72866.26
67. Bigham C, Bigham S, Jones C. Does the bispectral index monitor have a role in intensive care? 1A03 2C04 3A13. *J Intensive Care Soc.* 2012;13(4):314-319. doi:10.1177/175114371201300410
68. I LMF, Ii PMP. New challenges for lung transplantation in the era of. 2022;140(1):1-4.
69. Swarbrick CJ, Partridge JSL. Evidence-based strategies to reduce the incidence of postoperative delirium: a narrative review. *Anaesthesia.* 2022;77(S1):92-101. doi:10.1111/anae.15607
70. Ling D-A, Huang C-H, Chen W-J, et al. Impact of protocolized postarrest care with targeted temperature management on the outcomes of cardiac arrest survivors without temperature management. *Ann Med.* 2022;54(1):63-70. doi:10.1080/07853890.2021.2016941
71. DAWSON GD. Investigations on a patient subject to myoclonic seizures after sensory stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1947;10(4):141-162. doi:10.1136/jnnp.10.4.141
72. Regan D, Spekreijse H. Evoked potentials in vision research 1961-1986. *Vision Res.* 1986;26(9):1461-1480. doi:10.1016/0042-6989(86)90168-9
73. HALLIDAY AM, WAKEFIELD GS. Cerebral evoked potentials in patients with dissociated sensory loss. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1963;26:211-219. doi:10.1136/jnnp.26.3.211
74. Markand ON, Lee BI, Warren C, et al. Effects of hypothermia on brainstem auditory evoked potentials in humans. *Ann Neurol.* 1987;22(4):507-513. doi:10.1002/ana.410220410

75. Thornton C, Catley DM, Jordan C, Lehane JR, Royston D, Jones JG. Enflurane anaesthesia causes graded changes in the brainstem and early cortical auditory evoked response in man. *Br J Anaesth.* 1983;55(6):479-486. doi:10.1093/bja/55.6.479
76. Thornton C, Konieczko KM, Knight AB, et al. Effect of propofol on the auditory evoked response and oesophageal contractility. *Br J Anaesth.* 1989;63(4):411-417. doi:10.1093/bja/63.4.411
77. VandenBos GR. *APA Dictionary of Psychology*. Second edi. Washington, DC: American Psychological Association; 2015.
78. Shea O, Evoked M, In V, Ed G, Vol P, Sage A. Evoked potentials: Vision. In E. B. Goldstein (Ed.), *Encyclopedia of Perception* (Vol. 1, pp. 399-400, xli). Los Angeles: Sage. 2010;1(January):399-400.
79. Christina Kwasnica. *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology.*; 2011. doi:10.1007/978-0-387-79948-3
80. Legatt AD. Motor Evoked Potentials. *Encycl Neurol Sci.* 2014;3:111-114. doi:10.1016/B978-0-12-385157-4.01109-X
81. Plourde G. Auditory evoked potentials. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2006;20(1):129-139. doi:10.1016/j.bpa.2005.07.012
82. Goto T, Nakata Y, Saito H, Ishiguro Y, Niimi Y, Morita S. The midlatency auditory evoked potentials predict responsiveness to verbal commands in patients emerging from anesthesia with xenon, isoflurane, and sevoflurane but not with nitrous oxide. *Anesthesiology.* 2001;94(5):782-789. doi:10.1097/00000542-200105000-00015
83. Horn B, Pilge S, Kochs EF, Stockmanns G, Hock A, Schneider G. A combination of electroencephalogram and auditory evoked potentials separates different levels of anesthesia in volunteers. *Anesth Analg.* 2009;108(5):1512-1521. doi:10.1213/ane.0b013e3181a04d4c
84. Iselin-Chaves IA, El Moalem HE, Gan TJ, Ginsberg B, Glass PSA. Changes in the auditory evoked potentials and the bispectral index following propofol or propofol and alfentanil. *Anesthesiology.* 2000;92(5):1300-1310. doi:10.1097/00000542-200005000-00018
85. Bell SL, Smith DC, Allen R, Lutman ME. The auditory middle latency response, evoked using maximum length sequences and chirps, as an indicator of adequacy of anesthesia. *Anesth Analg.* 2006;102(2):495-498. doi:10.1213/01.ane.0000189191.71449.48

86. Van Oud-Alblas HJB, Peters JWB, De Leeuw TG, Tibboel D, Klein J, Weber F. Comparison of bispectral index and composite auditory evoked potential index for monitoring depth of hypnosis in children. *Anesthesiology*. 2008;108(5):851-857. doi:10.1097/ALN.0b013e31816bbd6e
87. Supp GG, Higgen FL, Hipp JF, Engel AK, Siegel M. Mid-Latency Auditory Evoked Potentials Differentially Predict Sedation and Drug Level Under Opioid and Hypnotic Agents. *Front Pharmacol*. 2018;9(December):1-10. doi:10.3389/fphar.2018.01427
88. Vereecke HEM, Struys MMRF, Jensen EW, et al. Performance of the ARX-derived auditory evoked potential index as an indicator of anaesthetic depth. A comparison with bis and haemodynamic measures during propofol administration. *Acta Anaesthesiol Belg*. 2002;53(1):80.
89. Trillo-Urrutia L, Fernández-Galinski S, Castaño-Santa J. Awareness detected by auditory evoked potential monitoring. *Br J Anaesth*. 2003;91(2):290-292. doi:10.1093/bja/aeg144
90. Aceto P, Valente A, Gorgoglione M, Adducci E, De Cosmo G. Relationship between awareness and middle latency auditory evoked responses during surgical anaesthesia. *Br J Anaesth*. 2003;90(5):630-635. doi:10.1093/bja/aeg113
91. Loveman E, Van Hooff JC, Smith DC. The auditory evoked response as an awareness monitor during anaesthesia. *Br J Anaesth*. 2001;86(4):513-518. doi:10.1093/bja/86.4.513
92. White PF, Ma H, Tang J, Wender RH, Sloninsky A, Kariger R. Does the Use of Electroencephalographic Bispectral Index or Auditory Evoked Potential Index Monitoring Facilitate Recovery after Desflurane Anesthesia in the Ambulatory Setting? *Anesthesiology*. 2004;100(4):811-817. doi:10.1097/00000542-200404000-00010
93. Lamas A, López-Herce J, Sancho L, et al. Assessing sedation in critically ill children by bispectral index, auditory-evoked potentials and clinical scales. *Intensive Care Med*. 2008;34(11):2092-2099. doi:10.1007/s00134-008-1198-1

94. Lu CH, Chen JL, Wu CT, et al. Effect of Epidural Neuraxial Blockade-dependent Sedation on the Ramsay Sedation Scale and the Composite Auditory Evoked Potentials Index in Surgical Intensive Care Patients. *J Formos Med Assoc.* 2010;109(8):589-595. doi:10.1016/S0929-6646(10)60096-4
95. Arigliani M, Toraldo DM, Ciavolino E, et al. The use of middle latency auditory evoked potentials (Mlaep) as methodology for evaluating sedation level in propofol-drug induced sleep endoscopy (dise) procedure. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(4):1-12. doi:10.3390/ijerph18042070
96. Iryna M. Muzyka BE. Somatosensory evoked potentials. In: *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier Inc.; 2019:523-540.
97. Toleikis JR. Intraoperative monitoring using somatosensory evoked potentials. A position statement by the American Society of Neurophysiological Monitoring. *J Clin Monit Comput.* 2005;19(3):241-258. doi:10.1007/s10877-005-4397-0
98. Papastefanou, Sotiris L. MD, BC(Orth), DMed*; Henderson, Lesley M. MRCP†; Smith, N. Jollyon FRCP†; Hamilton, Alistair MD, FRCS‡; Webb JKF. Surface electrode somatosensory-evoked potentials in spinal surgery: implications for indications and practice. *Spine (Phila Pa 1976).* 2000;25(19):2467-2472.
99. Rothwell PM, Goldstein LB. Carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis: Asymptomatic carotid surgery trial. *Stroke.* 2004;35(10):2425-2427. doi:10.1161/01.STR.0000141706.50170.a7
100. Kordzadeh A, Abbassi OA, Prionidis I, Shawish E. The Role of Carotid Stump Pressure in Carotid Endarterectomy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Vasc Dis.* 2020;13(1):28-37. doi:10.3400/avd.ra.19-00100
101. Florence G, Guerit JM, Gueguen B. Electroencephalography (EEG) and somatosensory evoked potentials (SEP) to prevent cerebral ischaemia in the operating room. *Neurophysiol Clin.* 2004;34(1):17-32. doi:10.1016/j.neucli.2004.01.001
102. Astarci P, Guerit JM, Robert A, et al. Stump Pressure and Somatosensory Evoked Potentials for Predicting the Use of Shunt During

- Carotid Surgery. *Ann Vasc Surg.* 2007;21(3):312-317. doi:10.1016/j.avsg.2006.07.009
103. Abbruzzese G. Motor Evoked Potential. *Encycl Mov Disord.* Published online 2010:194-195. doi:10.1016/B978-0-12-374105-9.00484-6
104. Griggs RC, Alcauskas M. Evidence-based guideline update: Intraoperative spinal monitoring with somatosensory and transcranial electrical motor evoked potentials: Report of the therapeutics and technology assessment subcommittee of the american academy of neurology and the americ. *Neurology.* 2012;79(3):292-294. doi:10.1212/WNL.0b013e3182637c24
105. Krieg SM, Shibani E, Droese D, et al. Predictive value and safety of intraoperative neurophysiological monitoring with motor evoked potentials in glioma surgery. *Neurosurgery.* 2012;70(5):1060-1070. doi:10.1227/NEU.0b013e31823f5ade
106. Pastorelli F, Di Silvestre M, Vommaro F, et al. Intraoperative monitoring of somatosensory (SSEPs) and transcranial electric motor-evoked potentials (tce-MEPs) during surgical correction of neuromuscular scoliosis in patients with central or peripheral nervous system diseases. *Eur Spine J.* 2015;24:931-936. doi:10.1007/s00586-015-4282-6
107. Fuhr P, Borggrefe-Chappuis A, Schindler C, Kappos L. Visual and motor evoked potentials in the course of multiple sclerosis. *Brain.* 2001;124(11):2162-2168. doi:10.1093/brain/124.11.2162
108. Leocani L, Rovaris M, Boneschi FM, et al. Multimodal evoked potentials to assess the evolution of multiple sclerosis: A longitudinal study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77(9):1030-1035. doi:10.1136/jnnp.2005.086280
109. Lee JJ, Kim Y Il, Hong JT, Sung JH, Lee SW, Yang SH. Intraoperative monitoring of motor-evoked potentials for supratentorial tumor surgery. *J Korean Neurosurg Soc.* 2014;56(2):98-102. doi:10.3340/jkns.2014.56.2.98
110. Thirumala PD, Huang J, Thiagarajan K, Cheng H, Balzer J, Crammond DJ. Diagnostic accuracy of combined multimodality somatosensory evoked potential and transcranial motor evoked potential intraoperative monitoring in patients with idiopathic scoliosis.

- Spine (Phila Pa 1976)*. 2016;41(19):e1177-e1184. doi:10.1097/BRS.0000000000001678
111. Chong CT, Manninen P, Sivanaser V, Subramanyam R, Lu N, Venkatraghavan L. Direct comparison of the effect of desflurane and sevoflurane on intraoperative motor-evoked potentials monitoring. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2014;26(4):306-312. doi:10.1097/ANA.0000000000000041
112. Haan P De, Kalkman CJ. Spinal cord monitoring: Somatosensory- and motor-evoked potentials. *Anesthesiol Clin North America*. 2001;19(4):923-945. doi:10.1016/S0889-8537(01)80017-1
113. MacDonald DB, Skinner S, Shils J, Yingling C. Intraoperative motor evoked potential monitoring - A position statement by the American Society of Neurophysiological Monitoring. *Clin Neurophysiol*. 2013;124(12):2291-2316. doi:10.1016/j.clinph.2013.07.025
114. Banga P V., Oderich GS, De Souza LR, et al. Neuromonitoring, cerebrospinal fluid drainage, and selective use of iliofemoral conduits to minimize risk of spinal cord injury during complex endovascular aortic repair. *J Endovasc Ther*. 2016;23(1):139-149. doi:10.1177/1526602815620898
115. Satomura S. Ultrasonic Doppler Method for the Inspection of Cardiac Functions. *J Acoust Soc Am*. 1957;29(11):1181-1185. doi:10.1121/1.1908737
116. Rune Aaslid, Thomas-Marc Markwalder HN. Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J Neurosurg*. 1982;57(6):769-774. <https://doi.org/10.3171/jns.1982.57.6.0769>
117. CME Science. Who Invented Ultrasound? Published 2018. <https://cmescience.com/who-invented-ultrasound/>
118. Kassab MY, Majid A, Farooq MU, et al. Transcranial doppler: An introduction for primary care physicians. *J Am Board Fam Med*. 2007;20(1):65-71. doi:10.3122/jabfm.2007.01.060128
119. Maulik D. Doppler sonography: A brief history. *Doppler Ultrasound Obstet Gynecol 2nd Revis Enlarg Ed*. Published online 2005:1-7. doi:10.1007/3-540-28903-8_1

120. Srivastav A, Bhogi K, Mandal S, Sharad M. An adaptive low-complexity abnormality detection scheme for wearable ultrasonography. *IEEE Trans Circuits Syst II Express Briefs*. 2019;66(8):1466-1470. doi:10.1109/TCSII.2018.2881612
121. Maulik D, Zalud I. *Doppler Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*; 2005. doi:10.1007/3-540-28903-8
122. Purkayastha S, Sorond F. Transcranial doppler ultrasound: Technique and application. *Semin Neurol*. 2012;32(4):411-420. doi:10.1055/s-0032-1331812
123. Blanco P, Abdo-Cuza A. Transcranial Doppler ultrasound in neurocritical care. *J Ultrasound*. 2018;21(1). doi:10.1007/s40477-018-0282-9
124. Alavi A, Sibbald RG, Nabavizadeh R, Valaei F, Coutts P, Mayer D. Audible handheld Doppler ultrasound determines reliable and inexpensive exclusion of significant peripheral arterial disease. *Vascular*. 2015;23(6):622-629. doi:10.1177/1708538114568703
125. Rasulo FA, De Peri E, Lavinio A. Transcranial Doppler ultrasonography in intensive care. *Eur J Anaesthesiol*. 2008;25(SUPPL. 42):167-173. doi:10.1017/S0265021507003341
126. Tsivgoulis G, Alexandrov A V., Sloan MA. Advances in transcranial Doppler ultrasonography. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2009;9(1):46-54. doi:10.1007/s11910-009-0008-7
127. Tsivgoulis G, Sharma VK, Lao AY, Malkoff MD, Alexandrov A V. Validation of transcranial Doppler with computed tomography angiography in acute cerebral ischemia. *Stroke*. 2007;38(4):1245-1249. doi:10.1161/01.STR.0000259712.64772.85
128. Demchuk AM, Scott Burgin W, Christou I, et al. Thrombolysis in Brain Ischemia (TIBI) transcranial Doppler flow grades predict clinical severity, early recovery, and mortality in patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Stroke*. 2001;32(1):89-93. doi:10.1161/01.STR.32.1.89
129. Alexandrov A V., Sloan MA, Tegeler CH, et al. Practice Standards for Transcranial Doppler (TCD) Ultrasound. Part II. clinical indications and expected outcomes. *J Neuroimaging*. 2012;22(3):215-224. doi:10.1111/j.1552-6569.2010.00523.x

130. Cao Y, Song X, Wang L, Qi Y, Chen Y, Xing Y. Transcranial Doppler Combined With Quantitative Electroencephalography Brain Function Monitoring for Estimating the Prognosis of Patients With Posterior Circulation Cerebral Infarction. *Front Neurol.* 2021;12(May):1-10. doi:10.3389/fneur.2021.600985
131. Baracchini C, Manara R, Ermani M, Meneghetti G. Can TCD Be a Guiding Light ? Published online 2000:2942-2947.
132. Simon Schäfer, Stefan Kliner, Lutz Klinghammer, Hans Kaarmann, Ivan Lucic UN. Influence of ultrasound operating parameters on ultrasound-induced thrombolysis in vitro. *Ultrasound Med Biol.* 2005;31(6):841-847. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2005.03.005>
133. Eggers J, Koch B, Meyer K, König I, Scidel G. Effect of ultrasound on thrombolysis of middle cerebral artery occlusion. *Ann Neurol.* 2003;53(6):797-800. doi:10.1002/ana.10590
134. Stępniewski J, Kopeć G, Musiałek P, et al. Hemodynamic Effects of Ultrasound-Assisted, Catheter-Directed, Very Low-Dose, Short-Time Duration Thrombolysis in Acute Intermediate-High Risk Pulmonary Embolism (from the EKOS-PL Study). *Am J Cardiol.* 2021;141:133-139. doi:10.1016/j.amjcard.2020.11.004
135. Gao Y, Wu M, Gaynes BI, Dieter RS, Xu J. Study of ultrasound thrombolysis using acoustic bubbles in a microfluidic device. *Lab Chip.* 2021;21(19):3707-3714. doi:10.1039/d1lc00276g
136. Ryuta Morihara, Toru Yamashita YO. Efficacy and safety of spot heating and ultrasound irradiation on in vitro and in vivo thrombolysis models. *J Cereb Blood Flow Metab.* Published online 2022. <https://doi.org/10.1177/0271678X221079127>
137. Bauer AM, Rasmussen PA. Treatment of intracranial vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Front Neurol.* 2014;5 MAY(May):1-7. doi:10.3389/fneur.2014.00072
138. Perren F. Transcranial Doppler in Subarachnoid Hemorrhage: Usefulness in the Diagnosis and Monitoring of Cerebral Vasospasm. In: *Neurosonology in Critical Care.* ; 2021:377-394. doi:DOI: 10.1007/978-3-030-81419-9_22

139. Hathidara M, Patel NH, Flores A, Cabrera Y, Cabrera F, Koch S. Transcranial Doppler findings in reversible cerebral vasoconstriction syndrome. *J Neuroimaging*. 2021;(October):1-7. doi:10.1111/jon.12946
140. Sharma S, Lubrica RJ, Song M, Vandse R, Boling W, Pillai P. The role of transcranial doppler in cerebral vasospasm: A literature review. *Acta Neurochir Suppl*. 2020;127:201-205. doi:10.1007/978-3-030-04615-6_32
141. Snider SB, Migdady I, LaRose SL, et al. Transcranial-Doppler-Measured Vasospasm Severity is Associated with Delayed Cerebral Infarction After Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. Published online 2021. doi:10.1007/s12028-021-01382-2
142. M.A. Sloan, MD, MS; A.V. Alexandrov, MD, RVT; C.H. Tegeler, MD; M.P. Spencer, MD; L.R. Caplan, MD; E. Feldmann, MD; L.R. Wechsler, MD; D.W. Newell, MD; C.R. Gomez, MD; V.L. Babikian, MD; D. Lefkowitz, MD; R.S. Goldman, MD; C. Armon, MD, MHS; C.Y. Hsu, MD, M. Assessment : Transcranial Doppler ultrasonography. *Neurology*. 2004;62(9). 10.1212/wnl.62.9.1468
143. Saqquur M, Zygun D, Demchuk A. Role of transcranial Doppler in neurocritical care. *Crit Care Med*. 2007;35(5 SUPPL.). doi:10.1097/01.CCM.0000260633.66384.FB
144. Gutierrez J, Turan TN, Hoh BL, Chimowitz MI. Intracranial atherosclerotic stenosis: risk factors, diagnosis, and treatment. *Lancet Neurol*. 2022;4422(21). doi:10.1016/s1474-4422(21)00376-8
145. Tekle WG, Hassan AE. Intracranial Atherosclerotic Disease: Current Concepts in Medical and Surgical Management. *Neurology*. 2021;97:S145-S157. doi:10.1212/WNL.0000000000012805
146. Mei Y, Hu R, Lin J, et al. Diagnosis of middle cerebral artery stenosis using the transcranial Doppler images based on convolutional neural network. *World Neurosurg*. 2022;(February):1-8. doi:10.1016/j.wneu.2022.01.068
147. Wang N, Chen Z, Zhang S, et al. Leptomeningeal collateral flow in patients with middle cerebral artery occlusion assessed by transcranial Doppler. *J Neuroimaging*. 2022;32(1):179-186. doi:10.1111/jon.12937

148. Shahripour RB, Azarpazhooh MR, Akhuanzada H, et al. Transcranial Doppler to evaluate postreperfusion therapy following acute ischemic stroke: A literature review. *J Neuroimaging*. 2021;31(5):849-857. doi:10.1111/jon.12887
149. Schlotman AA, Donahue MJ, Kassim AA, et al. Intracranial and Extracranial Vascular Stenosis as Risk Factors for Stroke in Sickle Cell Disease. *Pediatr Neurol*. 2021;114:29-34. doi:10.1016/j.pediatrneurol.2020.10.006
150. Linguet SL, Verlhac S, Kossorotoff M, Missud F, Benkerrou M, Koehl B. Stroke without Cerebral Vasculopathy in Sickle Cell Disease Children: Which Causes? Which Treatment? *Blood*. 2021;138(Supplement 1):2041-2041. doi:10.1182/blood-2021-147757
151. Aggeli C, Polytarchou K, Dimitroglou Y, et al. Stroke and presence of patent foramen ovale in sickle cell disease. *J Thromb Thrombolysis*. 2021;52(3):889-897. doi:10.1007/s11239-021-02398-3
152. Castro JFG. Sickle Cell Disease (SCD): Usefulness of Transcranial Doppler (TCD/TCCS) Monitoring. In: *Neurosonology in Critical Care*. Springer, Cham; 2021:701-711. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-030-81419-9_42
153. Kirkham FJ, deBaun MR. Stroke in children with sickle cell disease. *Curr Treat Options Neurol*. 2004;6(5):357-375. doi:10.1007/s11940-996-0028-4
154. Enniful-Eghan H, Moore RH, Ichord R, Smith-Whitley K, Kwiatkowski JL. Transcranial Doppler ultrasonography and prophylactic transfusion program is effective in preventing overt stroke in children with sickle cell disease. *J Pediatr*. 2010;157(3):479-484. doi:10.1016/j.jpeds.2010.03.007
155. Markus HS, Droste DW, Kaps M, et al. Dual antiplatelet therapy with clopidogrel and aspirin in symptomatic carotid stenosis evaluated using doppler embolic signal detection: The clopidogrel and aspirin for reduction of emboli in symptomatic carotid stenosis (CARESS) trial. *Circulation*. 2005;111(17):2233-2240. doi:10.1161/01.CIR.0000163561.90680.1C
156. Markus HS, MacKinnon A. Asymptomatic embolization detected by Doppler ultrasound predicts stroke risk in symptomatic

- carotid artery stenosis. *Stroke*. 2005;36(5):971-975. doi:10.1161/01.STR.0000162717.62684.40
157. Markus H. The Asymptomatic carotid emboli study: Study design and baseline results. *Int J Stroke*. 2009;4(5):398-405. doi:10.1111/j.1747-4949.2009.00339.x
158. Rothwell PM, Eliasziw M, Gutnikov SA, Warlow CP, Barnett HJM. Endarterectomy for symptomatic carotid stenosis in relation to clinical subgroups and timing of surgery. *Lancet*. 2004;363(9413):915-924. doi:10.1016/S0140-6736(04)15785-1
159. Batra A, Clark JR, LaHaye K, et al. Transcranial Doppler Ultrasound Evidence of Active Cerebral Embolization in COVID-19. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021;30(3):105542. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105542
160. Cinar A, Cetin G, Altintas Kadirhan O, Turgut S, Ekinci I, Asil T. Determination of cerebral blood flow velocity and microembolic signals in essential thrombocytosis by transcranial doppler ultrasonography. *Neurol Res*. 2021;43(2):157-163. doi:10.1080/01616412.2020.1833147
161. Riberholt CG, Olsen MH, Skovgaard LT, Berg RMG, Møller K, Mehlsen J. Reliability of the transcranial Doppler ultrasound-derived mean flow index for assessing dynamic cerebral autoregulation in healthy volunteers. *Med Eng Phys*. 2021;89:1-6. doi:10.1016/j.medengphy.2021.01.003
162. Zhang W, Lu H, Zhang P, et al. The Effect of Data Length on the Assessment of Dynamic Cerebral Autoregulation with Transfer Function Analysis in Neurological ICU Patients. *Neurocrit Care*. 2022;36(1):21-29. doi:10.1007/s12028-021-01301-5
163. Aries MJH, Elting JW, De Keyser J, Kremer BPH, Vroomen PCAJ. Cerebral autoregulation in stroke: A review of transcranial doppler studies. *Stroke*. 2010;41(11):2697-2704. doi:10.1161/STROKEAHA.110.594168
164. Panerai RB. Transcranial Doppler for evaluation of cerebral autoregulation. *Clin Auton Res*. 2009;19(4):197-211. doi:10.1007/s10286-009-0011-8

165. Reehal N, Cummings S, Mullen MT, et al. Differentiating Dynamic Cerebral Autoregulation Across Vascular Territories. *Front Neurol.* 2021;12(March):1-7. doi:10.3389/fneur.2021.653167
166. Sabayan B, Jansen S, Oleksik AM, et al. Cerebrovascular hemodynamics in Alzheimer's disease and vascular dementia: A meta-analysis of transcranial Doppler studies. *Ageing Res Rev.* 2012;11(2):271-277. doi:10.1016/j.arr.2011.12.009
167. Purandare N. Association of cerebral emboli with accelerated cognitive deterioration in Alzheimer's disease and vascular dementia (American Journal of Psychiatry (2001)). *Am J Psychiatry.* 2012;169(3):338. doi:10.1176/appi.ajp.2011.11101506
168. Sharma VK, Wong KS, Alexandrov A V. Transcranial Doppler. *Front Neurol Neurosci.* 2016;40:124-140. doi:10.1159/000448309
169. Tyagi SK, Mahapatra AK, Mishra NK. Transcranial doppler evaluation of blood flow velocity changes in basal cerebral arteries in cerebral AVMs following embolisation and surgery. *Neurol India.* 2000;48(2):112-115.
170. Ghoneim MM. Awareness Anesthesia. *Anesthesiology.* 2000;92(2):597-602.

PRZEGŁĄD NOWYCH TECHNOLOGII ANALIZY MOWY W DIAGNOSTYCE DEPRESJI

KAROLINA KAMIŃSKA^{1*}, MICHAŁ CIOŁĘK^{1,2}, MARIA NOWAK^{2,3}

1. Studenckie Koło Naukowe przy Klinice Rehabilitacji Psychiatrycznej przy Katedrze Psychiatrii Dorosłych, Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe im. prof. Zbigniewa Religi przy Katedrze Biofizyki, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Pediatrii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt:

Mowa osób z zaburzeniami depresyjnymi posiada charakterystyczne pewnymi cechami takimi jak obniżona i mniej zmienna głośność i wysokość głosu oraz częstsze i dłuższe pauzy podczas mówienia. W związku z tym dzięki nowym technologiom zaczęto szukać metod, które mogłyby w sposób przesiewowy i obiektywny diagnozować zaburzenia depresyjne na podstawie analizy mowy. Celem pracy jest przegląd tych technologii. Okazuje się, że są one skuteczne nie tylko w diagnozowaniu depresji, ale także w ocenie jej nasilenia, zmiany w czasie oraz różnicowania z innymi zaburzeniami psychicznymi. Przeanalizowano różne metody np. aplikacje na telefon, programy bazy próbek głosu i ich analizy, ale największą skutecznością charakteryzują się metody bazujące na sztucznej inteligencji, a szczególnie nauczaniu maszynowym i sztucznych sieciach neuronowych.

Słowa kluczowe: depresja, mowa, sztuczna inteligencja, nauczanie maszynowe

Abstract:

The speech of people with depressive disorders has some characteristic features such as lowered and less variable voice volume and pitch, and more frequent and longer pauses when speaking. Therefore, thanks to new technologies, a search began for methods that could screen and objectively diagnose depressive disorders on the basis of speech analysis. The aim of the work is to review these technologies. It turns out that they are effective not only in diagnosing depression, but also in assessing its severity, changes over time and distinguishing it from other mental disorders. Various methods were analyzed, e.g. mobile applications, voice sample database programs and their analysis, but the methods based on artificial intelligence, especially machine learning and artificial neural networks, are the most effective.

Keywords: depression, speech, artificial intelligence, machine learning

1. Wstęp

Problemy natury psychicznej są obok problemów sercowo-naczyniowych jedną z głównych przyczyn zgłaszania się pacjentów do lekarza pierwszego kontaktu. Już na tym etapie potrzebne są odpowiednie narzędzia służące rozpoznania zaburzeń nastroju i ich rodzaju, aby wdrożyć odpowiednie leczenie lub skierować na konsultację psychiatryczną.¹ Zaburzenia depresyjne są obecnie globalnym problemem społecznym i ekonomicznym powodującym cierpienie ok. 350 mln ludzi na świecie. Nadal jednak brak jest badań laboratoryjnych i obrazowych, które potrafią jednoznacznie potwierdzić diagnozę zaburzeń nastroju. Diagnoza depresji oparta jest obecnie na obowiązujących w ICD-11 i DSM-V kryteriach diagnostycznych, a jej postawienie bazuje na wywiadzie z pacjentem i/lub standaryzowanych skalach. Do osiowych objawów depresyjnych według klasyfikacji ICD-11 należą: obniżony nastrój, utrata zainteresowań i anhedonia oraz obniżenie napędu psychoruchowego. Utrzymywanie się co najmniej dwóch z nich powyżej dwóch tygodni jest wystarczające do rozpoznania depresji. W zależności od ilości objawów dodatkowych takich jak np. zaburzenia snu i osłabienie koncentracji, można rozpoznać czy mamy do czynienia z epizodem łagodnym, umiarkowanym czy ciężkim, co determinuje dalsze funkcjonowanie pacjenta. W klasyfikacji DSM-5 odpowiednikiem epizodu depresyjnego jest duże zaburzenie depresyjne (MDD), a do jego rozpoznania konieczne jest rozpoznanie pięciu objawów depresyjnych w tym koniecznie obniżonego nastroju lub utraty zainteresowań i zdolności odczuwania przyjemności. Do najbardziej znanych testów diagnostycznych używanych w celu rozpoznania depresji należą: skala Becka - BDI (21 pytań wypełnianych przez pacjenta) oraz skala Hamiltona - HAMD, ang. *Hamilton Rating Scale for Depression*, (17 punktów wypełnianych przez lekarza).²

1.1 Wzorce mowy charakterystyczne dla depresji

Mimo tego, że w kryteriach diagnostycznych ICD-11 i DSM-5 nie ma objawów dotyczących wzorców mowy specyficznych dla depresji to badania jednoznacznie potwierdzają, że takie wzorce istnieją.³⁻⁸ Już na początku lat 80. XX wieku zasugerowano, że istnieje korelacja pomiędzy emocjami i stresem, a prozodią mowy (czyli brzmieniowymi właściwościami mowy, takimi jak akcent i intonacja), aparatem głosowym i wydobywaniem dźwięku. Mowa badanych była spowolniona podczas sytuacji stresowych i związanych z nieprzyjemnymi emocjami.³ W 2016 w Klinice Psychiatrii Dorosłych Szpitala Uniwersyteckiego

w Krakowie przeanalizowano nagrania mowy osób w wieku 18-65 lat przy okazji badając te osoby za pomocą skali depresji Hamiltona. Okazało się, że im bardziej nasilone były objawy depresyjne tym wypowiedzi badanych były krótsze, ich tempo wolniejsze, a czas oczekiwania na podjęcie przez pacjenta wypowiedzi dłuższy (szczególnie latencja pierwszej wypowiedzi).⁴ Inne badania bazujące na prozodii mowy wykazały zmniejszoną zmienność głośności, tonu i wysokości głosu u osób wykazujących objawy depresyjne.⁵ W badaniu Darby et al. z 1984 roku analizowano parametry głosu osób chorych na depresję przed i po leczeniu farmakologicznym. U 77% osób przed tym leczeniem obecna była monotonia głośności i wysokości głosu, która po leczeniu zmniejszyła się.⁶ Badania Greden et al. zasugerowały, że osoby z objawami depresyjnymi robią podczas mówienia dłuższe przerwy pomiędzy słowami, a tempo ich mowy jest wolniejsze, szczególnie rano.^{7,8} Chociaż objawy te zauważane już wiele lat temu to niestety napotymano się na trudności w skonstruowaniu badania, programu lub testu, który w sposób dokładny analizowałby mowę i mógłby być wykorzystany przesiewowo na dużej liczbie pacjentów. Analizowanie nagrań audiowizualnych w sposób manualny często było zbyt subiektywne i pochłaniało dużo czasu oraz wymagało obecności klinicysty. Kilka lat temu rozkwit sztucznej inteligencji i innych nowych technologii dał nadzieję na skonstruowanie metody, która w sposób obiektywny i szybki daje możliwość detekcji specyficznych dla pacjentów z objawami depresyjnymi wzorców mowy, co może przyspieszyć i zobiektywizować proces diagnostyczny depresji.⁹ Celem niniejszej pracy jest przegląd nowych technologii analizowania mowy osób z zaburzeniami depresyjnymi. W związku z tym przeszukano internetowe bazy medyczne takie jak PubMed, Scopus by Elsevier, ResearchGate i Google Scholar.

2. Analiza mowy w diagnostyce depresji

2.1. Pierwsze metody dotyczące analizy mowy

Analiza mowy jest wykorzystywana coraz szerzej w diagnostyce i monitorowaniu terapii różnych zaburzeń psychicznych np. schizofrenii, PTSD (ang. *Post-traumatic stress disorder*), zaburzeń lękowych, choroby afektywnej dwubiegunowej oraz zaburzeń odżywiania.⁹ Analiza taka została wykorzystana między innymi w badaniu nasilenia stresu u medyków na początku pandemii COVID-19. Dokonano tego podczas 15-minutowych rozmów telefonicznych dzięki aplikacji rejestrującej i analizującej prozodię mowy badanych.¹⁰

W niniejszej pracy zdecydowano się skupić jednak na przeglądzie literatury dotyczącej wykrywania i analizowania nasilenia objawów depresyjnych.⁹ Pierwsze artykuły naukowe dotyczące analizy mowy wykorzystującej technologie były publikowane od początku XXI wieku. Jedno z pierwszych takich badań dotyczyło rozpoznawania wzorców mowy u osób symulujących objawy depresyjne i próby rozróżnienia ich od wzorców mowy u osób rzeczywiście chorujących na depresję. W badaniu wzięły udział osoby, które w skali depresji Becka osiągnęły dziesięć lub mniej punktów. Nagrano ich wypowiedzi, gdy swobodnie opisywali pokazywany przez klinicystów obrazek, a następnie do ich analizy wykorzystano program GIP/H-IV, do którego wcześniej wgrano wzorce mowy osób z depresją. Jako metodę statystyczną użyto sparowany test *t* Studenta, który porównał oba wzorce mowy i wyszukał różnice pomiędzy nimi. Istotnymi ostatecznie różnicami pomiędzy grupą symulującą, a chorującą okazała się większa liczba słów oraz częstsze używanie słów dotyczących emocji przez osoby z udawaną depresją. Inne objawy np. wysokość tonu głosu oraz długość pauz pomiędzy słowami nie okazały się istotne statystycznie.¹¹ Inne badanie oceniało skuteczność terapii (psychoterapia lub/i farmakoterapia) i nasilenie objawów depresji w związku z nim. Metoda ta bazowała na rozmowach telefonicznych w przeciągu kilku tygodni. Do zbierania danych w postaci próbek głosu (pacjenci odpowiadali na pytania jak się czują, ale także dostawali różne zadania np. recytacja alfabetu) użyto zautomatyzowanego interfejsu IVR (ang. *interactive voice response*), które następnie zostały przesłane do laboratorium akustyki głosu, w którym je zanalizowano. Pacjenci reagujący na leczenie mieli znacznie większą zmienność tonu głosu, robili mniej pauz podczas mówienia i mówili szybciej niż na początku terapii. Pacjenci nieodpowiadający na leczenie nie wykazywali podobnych zmian.¹² W innej pracy opisano opracowany algorytm, który analizował zmiany w aparacie mowy (a dokładniej w krtani) - średnią wysokość dźwięku i drganie strun głosowych u pacjentów z chorobą afektywną dwubiegunową w celu oszacowania ich aktualnego nastroju. Następnie algorytm ten porównano do bazy zawierającej dane z badania EGG (ang. *electroglottography*). Badanie to pozwoliło na rozróżnienie pacjentów z manią od pacjentów z depresją, ale zwrócono uwagę na zakłócający czynnik w postaci różnego nasilenia lęku.¹³ Yang et al. w 2013 zbadali zaś związek pomiędzy zmianą prozodii głosu, a nasileniem objawów depresyjnych. Ocenili 57 uczestników w odstępach 7-tygodniowych za pomocą skali depresji Hamiltona. Podczas tego nagrywali badanych audio-wizualnie. Pod uwagę wzięto czas trwania pauzy pomiędzy wypowiedziami

i zakres częstotliwości fal akustycznych. Okazało się, że prozodia głosu jest skorelowana z nasileniem objawów depresyjnych.¹⁴

2.2 Sztuczna inteligencja

Przełomem w analizowaniu wzorców mowy charakterystycznych dla osób z depresją było zastosowanie sztucznej inteligencji (ang. *artificial intelligence*, AI), a dokładniej uczenia maszynowego (ang. *machine learning*, ML) i sztucznych sieci neuronowych (ang. *artificial neural networks*, ANNs). Uczenie maszynowe jest obszarem sztucznej inteligencji, w której dzięki ekspozycji na dane (czyli “doświadczenia zbieranego przez maszyny”), a nie algorytmom zapisywanym w bazie sukcesywnie przez człowieka, odkrywane są wzorce, które pozwalają na podejmowanie przez komputer decyzji automatycznych. Obecnie jest ono wykorzystywane między innymi w detekcji patologii w badaniach obrazowych.¹⁵ Sztuczne sieci neuronowe zaś to model uczenia maszynowego oparty na biologicznych sieciach neuronowych. Ciała komórek nerwowych to “węzły” tych sieci. Mogą one komunikować się ze sobą, tak jak robią to połączenie neuronowe w mózgu człowieka. Systemy te po otrzymaniu informacji np. wartości ciśnienia tętniczego sprawdzają odpowiedź na nią w zbiorze uczącym, a następnie dokonują zmiany parametrów w sieci neuronowej, żeby ulepszyć wykonywanie tego zadania w przyszłości. Jest to rozwiązanie dużo efektywniejsze, niż wcześniej przedstawione algorytmy, ponieważ odwołuje się do ciągle uaktualniane przez system wiedzy (zbiór uczący). A więc nie tylko ukazuje analogię, ale także istotne przesłanki na podstawie np. całej historii choroby pacjenta, pomagające w postawieniu prawidłowej diagnozy i prowadzenia terapii z wyższą skutecznością. Ponadto sam proces jest mało pracochłonny i subiektywny. Jednym z przykładów sieci neuronowych jest konwolucyjna sieć neuronowa, która jest szczególnie przydatna w zakresie obrazowania.¹⁶

2.2.1 Sztuczna inteligencja jako metoda analizy mowy w diagnostyce depresji

Większość prac z ML i ANN jest oparta na bazie danych AVEC (ang. *Audio-Visual Emotion Challenge and Workshop*), która zawiera informacja w zakresie objawów depresji i PTSD. Do rozpoznawania depresji w AVEC2013 użyto szeroko dostępnego narzędzia *OpenSource Emotion and Affect Recognition* (openEAR). Składa się ono z 2268 cech i w kolejnych latach było coraz bardziej ulepszane. Zaadaptowano tam też cechy ze skali depresji

Becka.¹⁷ Następnie dodano do niej 200 cech prozodii mowy, aparatu głosowego i krtani, a następnie wyodrębniono z nich 2000 danych statystycznych. Okazało się, że cechy dotyczące aparatu głosowego są bardziej znaczące w wykrywaniu depresji, niż te dotyczące prozodii.¹⁸ W kolejnych latach dodano także cechy dotyczące myśli i zachowań samobójczych¹⁹ oraz zmiany nasilenia tych cech w czasie²⁰. Wreszcie połączono funkcję Gaussa (funkcja radialna, najczęściej stosowana w sztucznych sieciach neuronowych w celu obliczenia wartości wyjściowej neuronu) w *Extreme Learning Machine* i uzyskano pierwiastek średniego błędu kwadratowego, czyli informację jaka przeciętnie jest różnica prognozując dane z modelu. W AVEC2016 i 2017 użyto algorytmów przetwarzania mowy COVAREP (ang. *Cooperative Voice Analysis Repository for Speech Technologies*) i wzbogacono o cechy kolejne rozpoznawania depresji.⁹ W badaniu He et al. z 2018 roku na początku używano danych z ręcznie zbieranych wzorców z nagrań audio i obrazów spektrogramów, a następnie użyto DCNN (ang. *The designed deep convolutional neural network*) do głębokiej nauki z tych ręcznie zaprogramowanych wzorców. Później posłużono się bazą AVEC2013, w której znajdowały się informacje z 340 klipów wideo z 292 osobami, którym powierzono 14 różnych zadań np. głośne mówienie albo liczenie od 1 do 10. Średni czas rozmowy wynosił 25 minut, a średnia wieku badanych wynosiła 31,5 lat. Następnie wykorzystano bazę AVEC2014, w której użyto 300 klipów wideo trwających od 6 sekund do 4 minut. Badani musieli przeczytać fragment bajki, a następnie odpowiedzieć na jakieś pytanie własnymi słowami np. jakie jest ich ulubione danie. Ostatecznie porównano wybraną metodę bazującą na AVEC i nauczaniu maszynowym z metodami ręcznymi i okazało się, że wykrywa ona depresję z większą skutecznością.²¹ W kolejnym badaniu wykorzystującym AI bazowano na AVEC2013 i 2017 z algorytmem regresji liniowej, który jest najprostszą metodą statyczną w nauczaniu maszynowym i polega na określeniu liniowej zależności pomiędzy zmienną wejściową niezależną, a zmienną wyjściową zależną. Z uczestnikami rozmawiano przez telefon w celu wykrycia i ustalenia nasilenia cech depresyjnych. Odkryto, że głęboka sieć neuronowa działa najlepiej w klasyfikacji binarnej (a więc pokazuje czy depresja w ogóle występuje), podczas gdy losowy las (jedna z metod uczenia maszynowego, polegająca na tworzeniu drzew decyzyjnych) daje konkurencyjne wyniki dla zadania regresji (pokazuje nasilenie depresji).²² Kiss et al. w swoim badaniu sprawdzili czy korzystanie z AVEC2013 różni się wynikami w zależności od użytego języka. Użyto baz danych z języka niemieckiego, włoskiego i węgierskiego. Oceniano zarówno aparat mowy jak i prozodię głosu. Okazało się, że baza AVEC2013 może być wykorzystana

w różnych językach. W tym badaniu potwierdzono również, że istnieje różnica analizy mowy pomiędzy płciami i stwierdzono, że trzeba brać ten czynnik pod uwagę w przyszłych badaniach z tego zakresu.²³ W badaniu z 2017 roku także użyto AVEC2013 i 2014, ale oceniono przy tym także zmiany mimiki twarzy (a dokładniej jej zmieniającą się geometrię podczas mówienia). Skuteczność wykrywania oceniono na 94,8%. Zaproponowano przydatność tego narzędzia w badaniach przesiewowych, ale zwrócono uwagę, że detekcja objawów depresyjnych była niższa u osób bez znaczącej symptomatologii depresyjnej, a więc planowane jest zwiększenie specyfiki tej metody. Obserwowano też część wyników fałszywie dodatnich, aby temu zapobiec naukowcy proponują optymalizację cech ujemnie skorelowanych z depresją i dołączenie innych informacji uzupełniających w kierunku wieloczynnikowym.²⁴ W badaniu MGinnis et al. sprawdzono użyteczność nauczania maszynowego we wczesnym diagnozowaniu zaburzeń internalizacyjnych u dzieci. Występują one u 20% dzieci, a zaliczane są do nich objawy lękowe, depresyjne, wycofanie, a także objawy somatyczne bez podstawy medycznej i często prowadzą do prób samobójczych i uzależnień. Detekcja ta wyniosła 80% (54% czułości, 93% swoistości). W badaniu zostały przeanalizowane dzieci w wieku 3-7 lat, które dostały 3-minutowe zadanie wymagające użycia głosu. Do oceny objawów depresji użyto *Child Behavior Checklist*. Okazało się, że dzieci z zaburzeniem internalizacyjnym charakteryzują się niskim głosem, częstym powtarzaniem treści i reagowaniem na zaskakujące bodźce podniesieniem tonu głosu. Porównano to też do objawów zgłaszanych przez rodziców i okazało się, że rodzice identyfikują te objawy jako objawy zaburzenia internalizacyjnego z mniejszą dokładnością. Ma to niezwykle istotne znaczenie, ponieważ narzędzie to może zostać zastosowane przesiewowo, a wczesne wykrycie tych zaburzeń może pozwolić na odpowiednią terapię i zapobiegać samobójstwom u dzieci.²⁵ W japońskim badaniu z 2020 użyto uczenia maszynowego podczas rozmowy 120 osób chorych w wieku 57-84 lat z psychiatrami o ich codziennym życiu i ich nastroju. Celem było odróżnienie otępienia od pseudootępienia depresyjnego. W zaburzeniu tym na skutek najczęściej dużej depresji dochodzi do utraty zdolności funkcji poznawczych bardzo podobnej z jaką mamy do czynienia w otępieniu. Wciąż nie ma odpowiedniego, szybkiego i szeroko dostępnego narzędzia do odróżnienia tych dwóch stanów. Okazało się, że może w tym pomóc nauczanie maszynowe. Zebrano 419 danych, a 177 zostało zakwalifikowanych do ML. Stwierdzono, że niektóre cechy akustyczne były wspólne zarówno w przypadku demencji, jak i depresji, choć ich korelacja była odwrócona. Część dotycząca uczenia maszynowego obejmuje wybór funkcji za pomocą algorytmu

LASSO (jedna z metod statystycznej regresji stosowana w AI) i maszyny wektorów nośnych (SVM) z liniowym jądrem jako modelem predykcyjnym z dopasowanym wiekiem pacjentów z objawową depresją i pacjentem z otępieniem jako bazą danych. Zarówno podczas sesji treningowej, jak i sesji testowej uzyskano wysoką dokładność, czułość i swoistość. Wyniki te sugerują, że otępienie i depresja mogą być zarówno wykrywane, jak i różnicowane na podstawie samych cech akustycznych. Do oceny depresji użyto skali Hamiltona, a do oceny otępienia MMSE (*Mini-Mental State Examination*). Uczenie maszynowe przeprowadzono w trzech etapach: (1) zbadanie możliwości automatycznej diagnozy pseudodemencji za pomocą uczenia nienadzorowanego, (2) zbadanie możliwości automatycznej diagnozy pseudootępienia za pomocą nadzorowanego klasyfikatora oraz (3) sprawdzenie jego odporności na zestawy danych niedopasowane pod względem wieku. Ograniczeniem badania było wykorzystanie tylko języka japońskiego i zakłócający wpływ głosu psychiatry.²⁶ Hansen et al. użyli nauczania maszynowego podczas 20-50 minutowego wywiadu w celu analizy mowy w języku angielskim i niemieckim u osób z dużą depresją (n=40) i remisją depresji (n=25) oraz porównano te wyniki ze zdrową grupą kontrolną (n=42). Baza danych pochodziła z nagrań mowy profesjonalnych aktorów i aktorek prezentujących różne emocje. Model wykazał oddzielenie zdrowych osób z grupy kontrolnej od pacjentów z depresją podczas pierwszej wizyty, uzyskując AUC 0,71. Co więcej, mowa pacjentów w remisyj była nie do odróżnienia od mowy grupy kontrolnej. Prognozy modelu były stabilne przez cały wywiad, co sugeruje, że 20–30 sekund mówienia może wystarczyć, aby dokładnie przebadać pacjenta. Czynnikiem zakłócającym wynik był hałas w tle. Okazało się także, że MDD jest chorobą heterogenną, a z największą swoistością jest wykrywany podtyp melancholijny.²⁷ W badaniu bazującym na sztucznych sieciach neuronowych u trzynastu badanych w wieku 35-68 lat określano nasilenie objawów depresyjnych przez osiem miesięcy: dwa miesiące przed głęboką stymulacją mózgu (DBS) i przez pierwsze sześć miesięcy stymulacji. Użyto bazy danych pochodzącej z programu IEMOCAP, która zawierała 4886 wypowiedzi aktorów i aktorek z różnymi emocjami (złością, podekscytowaniem, obojętnością i smutkiem). Brano pod uwagę cechy mowy, a nie jej treść. Na podstawie tych nagrań stworzono model sztucznej sieci neuronowej, która ucząc się jak rozpoznawać dane emocje przekształca je w klasyfikację danych. Następnie wprowadzono tam nieoznakowane dane dźwiękowe pacjentów i przeszkolono je za pomocą warstw w LSTM (*long short-term memory*), aby odpowiednio je zaklasyfikować. Wyniki porównano ze skalą depresji Hamiltona. Chociaż badanie wymaga sprawdzenia metody na większej liczbie

uczestników to wyniki okazały się istotne statycznie. Wskazują, że zaproponowane podejście, w porównaniu z alternatywnymi, skutecznie klasyfikuje objawy depresyjne i odpowiedź na leczenie za pomocą DBS z AUC wynoszącym 0,80.²⁸ Podobne badanie odpowiedzi na leczenie depresji dotyczyło terapii psylocybiną w połączeniu z psychoterapią. W 85% przypadków dzięki ML prawidłowo oceniono czy osoba jest zdrowa oraz czy odpowiada na leczenie.²⁹ Model LSTM, ale zmodyfikowany o poprawę wydajności warstwy ukrytej, został użyty także w badaniu w połączeniu z *multi-head time-dimension*. Zaproponowana metoda jest wykorzystywana do uwydatniania informacji o obszarach istotnych dla emocji, aby zwiększyć skuteczność klasyfikacji w wykrywaniu depresji. Poprzez liniowe rzutowanie wektorów kontekstu na różne podprzestrzenie, wielogłowa warstwa uwagi oblicza ukryte informacje, które wykazują lepszą wydajność niż w przypadku uwagi jednej głowy.³⁰

2.3 Inne metody analizowania mowy użyteczne w diagnostyce depresji

W związku z rosnącą popularnością aplikacji mobilnych stanowiących narzędzie diagnostyczne i umożliwiających monitorowanie terapii, Holmlund et. al zaproponowali aplikację, która analizuje mowę. Badani (24 mężczyzn uzależnionych od substancji psychoaktywnych z współwystępującymi zaburzeniami depresyjnymi) dostali zadanie aby nazwać jak najwięcej zwierząt w ciągu jednej minuty. Grupa kontrolna, składająca się ze zdrowych ochotników wymieniała ok. 25 nazw zwierząt, a grupa badawcza 19, różnice dotyczyły też długości pauz pomiędzy wypowiedzianymi nazwami. Wyniki te na pewno wymagają sprawdzenia ich prawidłowości na większej liczbie uczestników oraz ustalenia rozłożenia w czasie.³¹ Inną aplikację zaproponowali Matteo et al. w 2021 roku. Mierzyła ona objawy depresyjne i lękowe. Aplikacja ta została zainstalowana u 86 badanych i analizowała ich mowę przez dwa tygodnie. Na początku i na końcu tego okresu badani wypełnili także cztery skale oceniające te objawy. Wypowiedzane słowa wykryte w środowisku uczestników były zbierane przez aplikację mobilną co 5 minut przez 15 sekund o każdej porze dnia. Transkrypcje nagrań audio zostały wygenerowane przy użyciu oprogramowania do automatycznego rozpoznawania mowy (*Google Speech-to-Text*). Słowa każdego uczestnika były przechowywane w losowej kolejności, bez żadnych znaczników czasu, aby zapobiec rekonstrukcji ich transkrypcji, a nagrania audio zostały zniszczone po wygenerowaniu, aby zachować prywatność uczestników badania. Jednym z wniosków było to, że osoby z nasilonymi objawami depresyjnymi, częściej wypowiadały słowa związane ze śmiercią. Pomimo

ograniczeń np. krótkiego czasu zbierania danych nieobejmującego często całej wypowiedzi oraz używania metafor i sarkazmu, narzędzie to może okazać się niezwykle przydatne.³² W kilku badaniach użyto także metody, która nie bazuje na sztucznej inteligencji. Użyto w nich zapisanych w bazie próbki głosu osób z depresją i porównywano je do modulacji głosu osób badanych. Zasugerowano przydatność w warunkach klinicznych jako narzędzie wspomagające diagnostykę depresji np. w gabinecie psychiatry, ale narzędzie nienadające się do diagnostyki przesiewowej na dużą skalę ze względu na czasochłonność i brak ciągłej aktualizacji danych, które ma miejsce w nauczaniu maszynowym.^{33,34} Na uwagę zasługuje również badanie z 2018 roku, w którym utworzono bazę danych z 735 osób z dystymią i MDD lub zaburzeniami lękowymi oraz z 935 osób zdrowych. Do przetwarzania dźwięku użyto systemu *Mel Frequency Cepstral Coefficients* (MFCCs). Ustalono, że dzięki temu narzędziowy można wykrywać depresję z dokładnością 77%, nawet gdy wypowiedzi testowe trwają 10 sekund, a dokładność sięga 95%, gdy wypowiedzi testowe trwają 1,8 minuty.³⁵

3. Podsumowanie

Przegląd literatury związanej z nowymi technologiami analizy mowy w celu wykrywania objawów depresyjnych daje duże nadzieje. Szczególnie obiecujące są badania z zakresu sztucznej inteligencji, a dokładniej nauczania maszynowego i sztucznych sieci neuronowych.⁹ Dzięki nim można w sposób przesiewowy i mniej czasochłonny od do tej pory stosowanych metod nie tylko wykryć objawy depresyjne, ale także określić ich nasilenie²², zmianę w czasie²⁰, odpowiedź na terapię np. farmakologiczną^{28,29} i odróżnić od innych stanów np. otępienia i zaburzeń lękowych^{25, 26}. Warto jednak pamiętać, że metody te wymagają jeszcze odpowiedniego sprawdzenia na większej liczbie badanych, a ostateczną decyzję o postawieniu diagnozy depresji podejmuje lekarz.

Referencje

1. Roca M, Gili M, Garcia-Garcia M, et al. Prevalence and comorbidity of common mental disorders in primary care. *Journal of Affective Disorders*. 2009;119(1-3):52-58. doi:10.1016/j.jad.2009.03.014
2. Gałęcki, Piotr. Agata, Szulc. *Psychiatria*. Edra Urban & Partner, 2018.

3. Teasdale JD, Fogarty SJ, Williams JMG. Speech rate as a measure of short-term variation in depression. *British Journal of Social and Clinical Psychology*. 1980;19(3):271-278. doi:10.1111/j.2044-8260.1980.tb00353.x
4. Neurolingwistyka Praktyczna 2016 Nr 2 Medyczne Eksploatacje. Accessed April 26, 2022. <http://neurolingwistyka.up.krakow.pl/article/download/3397/2999>
5. Moran RJ, Reilly RB, de Chazal P, Lacy PD. Telephony-Based Voice Pathology Assessment Using Automated Speech Analysis. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2006;53(3):468-477. doi:10.1109/tbme.2005.869776
6. Darby JK, Simmons N, Berger PA. Speech and voice parameters of depression: A pilot study. *Journal of Communication Disorders*. 1984;17(2):75-85. doi:10.1016/0021-9924(84)90013-3
7. Greden JF, Carroll BJ. Psychomotor function in affective disorders: an overview of new monitoring techniques. *The American Journal of Psychiatry*. 1981;138(11):1441-1448. doi:10.1176/ajp.138.11.1441
8. Greden JF, Carroll BJ. Decrease in speech pause times with treatment of endogenous depression. *Biological Psychiatry*. 1980;15(4):575-587. Accessed April 26, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7397288/>
9. Low DM, Bentley KH, Ghosh SS. Automated assessment of psychiatric disorders using speech: A systematic review. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*. 2020;5(1):96-116. doi:10.1002/lio2.354
10. König A, Riviere K, Linz N, Elbaum J, Fabre R, Robert P. Measuring Stress in Health Professionals over the Phone using Automatic Speech Analysis during COVID-19 Pandemic: Observational Study (Preprint). *Journal of Medical Internet Research*. Published online September 28, 2020. doi:10.2196/24191
11. Cannizzaro M, Harel B, Reilly N, Chappell P, Snyder PJ. Voice acoustical measurement of the severity of major depression. *Brain and Cognition*. 2004;56(1):30-35. doi:10.1016/j.bandc.2004.05.003

12. Mundt JC, Snyder PJ, Cannizzaro MS, Chappie K, Geralts DS. Voice acoustic measures of depression severity and treatment response collected via interactive voice response (IVR) technology. *Journal of Neurolinguistics*. 2007;20(1):50-64. doi:10.1016/j.jneuroling.2006.04.001
13. Vanello N, Guidi A, Gentili C, et al. Speech analysis for mood state characterization in bipolar patients. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Annual International Conference*. 2012;2012:2104-2107. doi:10.1109/EMBC.2012.6346375
14. Yang Y, Fairbairn C, Cohn JF. Detecting Depression Severity from Vocal Prosody. *IEEE Transactions on Affective Computing*. 2013;4(2):142-150. doi:10.1109/t-affc.2012.38
15. Tadeusiewicz R. Sieci neuronowe i inne systemy sztucznej inteligencji dla medycyny. *Inżynieria Biomedyczna*. Published online January 1, 2008. Accessed April 26, 2022. https://www.academia.edu/37141965/Sieci_neuronowe_i_inne_systemy_sztucznej_inteligencji_dla_medycyny.
16. Stęgowski, Z. *Sztuczne sieci neuronowe*. Kraków: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne. Published online 2004. Accessed April 26, 2022. http://www.ftj.agh.edu.pl/~stegowski/rozne/neurony/art_kern_1.pdf
17. Williamson JR, Godoy E, Cha M, et al. Detecting Depression using Vocal, Facial and Semantic Communication Cues. *Proceedings of the 6th International Workshop on Audio/Visual Emotion Challenge - AVEC '16*. Published online 2016. doi:10.1145/2988257.2988263
18. Moore E, Clements MA, Peifer JW, Weisser L. Critical Analysis of the Impact of Glottal Features in the Classification of Clinical Depression in Speech. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2008;55(1):96-107. doi:10.1109/tbme.2007.900562
19. Cummins N, Scherer S, Krajewski J, Schnieder S, Epps J, Quatieri TF. A review of depression and suicide risk assessment using speech analysis. *Speech Communication*. 2015;71:10-49. doi:10.1016/j.specom.2015.03.004

20. Cohn JF, Kruez TS, Matthews I, et al. Detecting depression from facial actions and vocal prosody. *IEEE Xplore*. doi:10.1109/ACII.2009.5349358
21. Automated depression analysis using convolutional neural networks from speech. *Journal of Biomedical Informatics*. 2018;83:103-111. doi:10.1016/j.jbi.2018.05.007
22. Tasnim, M., & Stroulia, E. Detecting depression from voice. In *Canadian Conference on Artificial Intelligence* (pp. 472-478). Springer, Cham. Published 2019. doi:10.1007/978-3-030-18305-9_47
23. Kiss G, Vicsi K. Mono- and multi-lingual depression prediction based on speech processing. *International Journal of Speech Technology*. 2017;20(4):919-935. doi:10.1007/s10772-017-9455-8
24. Pampouchidou A, Simantiraki O, Vazakopoulou C - M, et al. Facial geometry and speech analysis for depression detection. *IEEE Xplore*. doi:10.1109/EMBC.2017.8037103
25. McGinnis EW, Anderau SP, Hruschak J, et al. Giving Voice to Vulnerable Children: Machine Learning Analysis of Speech Detects Anxiety and Depression in Early Childhood. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*. Published online 2019:1-1. doi:10.1109/jbhi.2019.2913590
26. Sumali B, Mitsukura Y, Liang K, et al. Speech Quality Feature Analysis for Classification of Depression and Dementia Patients. *Sensors*. 2020;20(12):3599. doi:10.3390/s20123599
27. Hansen L, Zhang YP, Wolf D, Sechidis K, Ladegaard N, Fusaroli R. A generalizable speech emotion recognition model reveals depression and remission. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2022;145(2):186-199. doi:10.1111/acps.13388
28. Harati S, Crowell A, Huang Y, Mayberg H, Nemati S. Classifying Depression Severity in Recovery From Major Depressive Disorder via Dynamic Facial Features. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*. 2020;24(3):815-824. doi:10.1109/jbhi.2019.2930604

29. Carrillo F, Sigman M, Fernández Slezak D, et al. Natural speech algorithm applied to baseline interview data can predict which patients will respond to psilocybin for treatment-resistant depression. *Journal of Affective Disorders*. 2018;230:84-86. doi:10.1016/j.jad.2018.01.006
30. Zhao Y, Liang Z, Du J, Zhang L, Liu C, Zhao L. Multi-Head Attention-Based Long Short-Term Memory for Depression Detection From Speech. *Frontiers in Neurobotics*. 2021;15. doi:10.3389/fnbot.2021.684037
31. Holmlund TB, Cheng J, Foltz PW, Cohen AS, Elvevåg B. Updating verbal fluency analysis for the 21st century: Applications for psychiatry. *Psychiatry Research*. 2019;273:767-769. doi:10.1016/j.psychres.2019.02.014
32. Di Matteo D, Wang W, Fotinos K, et al. Smartphone-Detected Ambient Speech and Self-Reported Measures of Anxiety and Depression: Exploratory Observational Study. *JMIR Formative Research*. 2021;5(1):e22723. doi:10.2196/22723
33. Pan W, Flint J, Shenhav L, et al. Re-examining the robustness of voice features in predicting depression: Compared with baseline of confounders. Li Z, ed. *PLOS ONE*. 2019;14(6):e0218172. doi:10.1371/journal.pone.0218172
34. Hashim NW, Wilkes M, Salomon R, Meggs J, France DJ. Evaluation of Voice Acoustics as Predictors of Clinical Depression Scores. *Journal of Voice*. 2017;31(2):256.e1-256.e6. doi:10.1016/j.jvoice.2016.06.006
35. Afshan A, Guo J, Park SJ, Ravi V, Flint J, Alwan A. Effectiveness of Voice Quality Features in Detecting Depression. *Interspeech 2018*. Published online September 2, 2018. doi:10.21437/interspeech.2018-1399

WYKORZYSTANIE NARZĘDZI TELEMEDYCYNY W REUMATOLOGII - KIERUNKI ROZWOJU I PERSPEKTYWY

ANGELIKA KORDYLEWSKA-KUBUS, IGA PASZKIEWICZ,
PAULA NOWOCIEŃ, DOMINIK NOWOCIEŃ

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

Abstrakt:

Już od wielu lat innowacje dotyczące zdrowia cyfrowego są z sukcesem wykorzystywane w różnych dziedzinach medycyny. Technologie takie jak komunikatory internetowe, aplikacje na smartfony czy też media społecznościowe odgrywają coraz ważniejszą rolę w łatwiejszym dostępie do opieki medycznej i szybszym kontakcie lekarza z pacjentem. W opiece nad pacjentem reumatologicznym wprowadzenie rozwiązań cyfrowych może przyczynić się do poprawy wydajności systemu i efektów leczenia. Ważnym aspektem użycia nowych technologii jest umiejętne połączenie korzyści, jakie daje szeroki dostęp do nowych rozwiązań oraz zindywidualizowane podejście do każdego pacjenta, a także pochylenie się nad kwestiami dotyczącymi m.in. bezpieczeństwa danych. Niniejszy rozdział ma na celu przybliżenie zagadnień związanych z wykorzystaniem narzędzi telemedycyny w reumatologii oraz omówienie przyszłych kierunków jej rozwoju.

Słowa kluczowe: reumatologia, telemedycyna, zdrowie cyfrowe, sztuczna inteligencja, urządzenia mobilne

Abstract:

Digital health innovations have been successfully applied in various medical fields for many years now. Technologies such as instant messaging, smartphone apps, and social media are playing an increasingly important role in facilitating access to medical care and expediting doctor-patient contact. In rheumatology patient care, the introduction of digital solutions can help improve system efficiency and patient outcomes. An important aspect of using new technologies is to skillfully combine the benefits of broad access to new solutions with an individual approach to each patient and consideration of issues such as data security. The aim of this chapter is to discuss issues related to the use of telemedicine tools in rheumatology and to discuss future directions of development.

Keywords: rheumatology, telemedicine, digital health, artificial intelligence, mobile devices

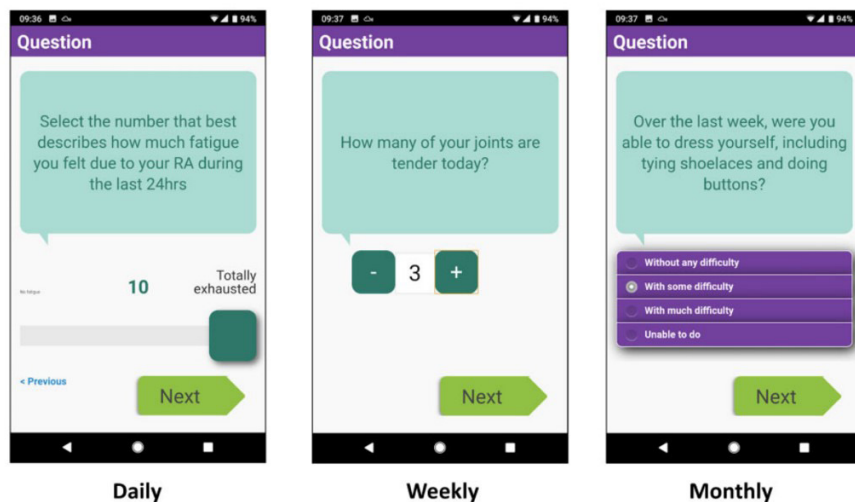
1. Wprowadzenie

Telemedycyna pozostaje od wielu lat w kręgu zainteresowań pracowników wielu sektorów medycznych i biznesowych. Stale zwiększająca się liczebność populacji i szacowana długość życia, skłaniają naukowców do poszukiwania rozwiązań mogących zapewnić swobodny dostęp do opieki medycznej. Trudności przysparzają nie tylko czynniki ekonomiczne czy też demograficzne ale także niedobór wykwalifikowanego personelu medycznego. Utrudniony dostęp do tych samych usług medycznych jest szczególnie widoczny przy porównaniu możliwości mieszkańców terenów wiejskich i miejskich. Zjawisko to może negatywnie odbić się na jakości życia starszych członków społeczeństwa, którzy częściej niż osoby młode wymagają monitorowania stanu zdrowia i kontroli lekarskich. Wszystkie te wyzwania wpływają na szybki i intensywny rozwój technologii, które wykorzystywane w sektorze ochrony zdrowia wspomagają istniejące systemy tak, aby możliwe było świadczenie usług medycznych dla szerszej grupy odbiorców¹. Wśród korzyści płynących z zastosowania rozwiązań komputerowych podkreślić należy ich łatwą dostępność, wygodę, a także dużą oszczędność czasu, co w przypadku pacjentów dojeżdżających na wizyty z odległych miejsc ma duże znaczenie². Dotychczasowe wykorzystanie narzędzi telemedycyny w reumatologii nie było tak szerokie jak np. w kardiologii czy psychiatrii, lecz wydarzenia ostatnich kilku lat, takie jak pandemia SARS-CoV-2, skutecznie pokazały, że rynek telereumatologii cieszy się coraz większą popularnością wśród producentów rozwiązań technologicznych³.

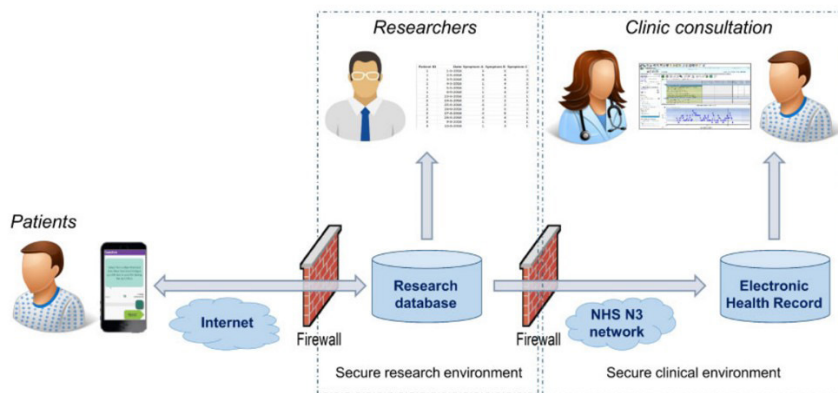
2. Aplikacje mobilne

Istnieje ponad 200 000 aplikacji mobilnych dostępnych dla urządzeń pracujących z wykorzystaniem systemu operacyjnego Android i IOS przeznaczonych dla pacjentów ze schorzeniami reumatologicznymi, lecz tylko niektóre z nich zostały pozytywnie ocenione w kategoriach korzyści klinicznych⁴. Aplikacje można podzielić na kilka kategorii, do których zaliczają się m.in. aplikacje edukacyjne, aplikacje wykorzystywane przez klinicystów czy też aplikacje wykorzystywane przez pacjenta do kontrolowania choroby w warunkach domowych⁵. Aplikacje edukacyjne mogą odgrywać znaczącą rolę w początkowym etapie choroby reumatologicznej, gdy pacjent nie posiada jeszcze wystarczającej wiedzy na temat swojego schorzenia. Wadą takich rozwiązań jest brak istotnej poprawy wyników zdrowotnych użytkowników oraz szybkie znudzenie się treściami edukacyjnymi i w konsekwencji zrezygnowanie ze stosowania

aplikacji. Programy dla klinicystów mogą znacząco usprawniać ich pracę, gdyż znaczna większość lekarzy korzysta obecnie ze smartfonów czy też tabletów. Aplikacje do samodzielnego monitorowania przebiegu choroby są pomocne dla osób zmagających się z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS). Niejako zmuszają one pacjenta do zaangażowania się w proces leczenia, poprzez codzienne rejestrowanie objawów czy przyjmowanych leków⁶. Bardzo przyszłościowym rozwiązaniem wydaje się być program finansowany przez brytyjski *National Institute for Health Research (NIHR)* oraz organizację charytatywną *Versus Arthritis*, trwający do 2025 roku. Zakłada on wykorzystanie aplikacji REMORA (*Remote monitoring of Rheumatoid Arthritis*), dzięki której pacjent codziennie rejestruje objawy reumatoidalnego zapalenia stawów. Dane te są następnie podsumowane w formie wykresu i sprzęgane z elektroniczną kartą zdrowia. Umożliwia to lepsze spersonalizowanie formy leczenia oraz włączenie pacjenta w proces terapeutyczny. Podczas trwającego trzy miesiące programu pilotażowego wykazano, że korzystanie z aplikacji pozwoliło na lepsze monitorowanie choroby poprzez wychwycenie niewielkich zmian w pojawiających się objawach i ich nasileniu, co mogłoby zostać niezauważone podczas klasycznej wizyty u lekarza⁷.



Ilustracja. 1. Grafika ukazująca zrzut ekranu z aplikacji REMORA (*Remote monitoring of Rheumatoid Arthritis*) z przykładowymi pytaniami dla pacjenta²⁸



Ilustracja 2. Schemat przedstawiający sprzężanie danych z aplikacji mobilnej z elektroniczną kartą zdrowia ²⁸

Pomimo niewątpliwych korzyści wynikających ze stosowania aplikacji mobilnych w chorobach reumatologicznych, wciąż istnieją trudne do rozwiązania problemy. Korzystanie z aplikacji wymaga stałego dostępu do urządzenia elektronicznego i internetu, co w przypadku niektórych grup pacjentów (np. osób starszych) może stanowić ciężki do spełnienia warunek. Kolejnym aspektem jest konieczność dostosowania programu do różnych systemów operacyjnych, a także każdorazowe testowanie przez grupy informatyków po wprowadzeniu aktualizacji. Ciekawym pomysłem wydaje się być wypożyczanie pacjentom na czas prowadzenia pomiarów identycznych urządzeń, lecz wiąże się to ze zwiększeniem kosztów badania oraz brakiem gwarancji, że pacjent będzie korzystał z udostępnionego sprzętu. Pomysłodawcy aplikacji powinni mieć na uwadze także dość istotną kwestię szczególnie w dziedzinie reumatologii - dla pacjentów z objawami reumatoidalnego zapalenia stawów takimi jak ból czy sztywność stawów, obsługiwanie aplikacji za pomocą dłoni może być niekomfortowe lub niemożliwe. Dlatego sporym ułatwieniem może być wprowadzenie możliwości obsługi aplikacji za pomocą głosu^{6,8}.

3. Technologie do noszenia

W ostatnich latach, obserwuje się dynamiczny rozwój technologii ubieralnych, co wynika z intensywnego rozwoju internetu i technologii big data. Urządzenia do noszenia na ciele stają się częścią codziennego życia znajdującą zastosowanie w wielu różnych dziedzinach takich jak edukacja, ochrona zdrowia, sport czy kultura. Obecnie wiele osób nie wyobraża sobie aktywności

fizycznych bez akcesoriów wspomagających w postaci inteligentnych zegarków, opasek i okularów⁹. Również w obszarze reumatologii, technologie te mogą poprawić interakcję na linii lekarz-pacjent, a monitorując parametry takie jak tętno, rytm snu czy też zmiany w EKG, wcześniej ostrzegać o pojawiającym się zagrożeniu¹⁰. Aby wykorzystywać dane uzyskane poprzez urządzenia noszone na ciele, powinny zostać opracowane wytyczne postępowania, tak aby z jednej strony zapewnić ich bezpieczeństwo, a z drugiej właściwy zespół odpowiedzialny za ich monitorowanie i w razie potrzeby odpowiednią reakcję¹¹. Akcesoria te, poprzez gromadzenie i przetwarzanie danych powszechnie uważanych za wrażliwe (związanych ze stanem zdrowia oraz lokalizacją za pośrednictwem GPS), mogą wiązać się ze zwiększonym ryzykiem w zakresie zapewnienia bezpieczeństwa i prywatności użytkowników. Dlatego tak ważnym aspektem jest zrozumienie nie tylko korzyści, ale i ryzyka płynącego z posiadania i użytkowania takich urządzeń¹². Aktymetry, pierwotnie przeznaczone do rejestrowania aktywności fizycznej i rytmu dobowego organizmu, stały się istotnym elementem badań w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów. Obecnie, dzięki wsparciu sztucznej inteligencji, możliwe jest wykorzystanie tego wynalazku do określenia ilości i rodzaju wykonywanego ruchu¹³. Gossec i wsp. wykorzystali czujnik aktywności fizycznej do zbadania związku między aktywnością fizyczną, a zaostrzeniami RZS. Wykazano, że istnieje korelacja pomiędzy tymi czynnikami, lecz zwrócono również uwagę na istnienie możliwych czynników zakłócających badanie. Uważa się, że trackery aktywności fizycznej, poprzez pomiar ilości kroków, mogłyby pomóc we wczesnym wykrywaniu zaostrzeń RZS¹⁴.

4. Stosunek polskich pacjentów reumatologicznych do telemedycyny w dobie pandemii COVID-19

Pandemia SARS-CoV-2 przyczyniła się do znacznego ograniczenia aktywności fizycznej społeczeństwa. Wpłynęło to na nasilenie konieczności kierowania pacjentów do struktur opieki zdrowotnej oraz zwiększenie zapotrzebowania na alternatywne sposoby monitorowania pacjentów z wykorzystaniem telemedycyny. Przeprowadzone przez polskich naukowców badanie ankietowe na grupie 244 respondentów dowiodło, że grupa chorych reumatologicznych chętnie korzystała ze specjalistycznych telekonsultacji. Średnia wieku badanych wynosiła $40,6 \pm 10,5$ roku, 93% stanowiły kobiety, a 48% respondentów mieszkało nie dalej niż 20 km od przychodni reumatologicznej. Najchętniej wybierane były konsultacje telefoniczne, a jako czynniki

zniechęcające do telekonsultacji pacjenci wskazywali brak badania fizykalnego (43%) oraz badań dodatkowych (43,9%)¹⁵.

5. Zalety i ograniczenia telemedycyny w reumatologii

5.1. Zalety

Telemedycyna oferuje wiele korzystnych rozwiązań w praktyce klinicznej. Pomaga zapewnić opiekę nad pacjentem poza ustawowymi godzinami pracy, ułatwia usługi takie jak planowanie wizyt i odnawianie recept oraz przede wszystkim redukuje, najbardziej odczuwalny zwłaszcza na terenie obszarów wiejskich, niedobór lekarzy. Pacjenci z chorobami reumatycznymi chętnie korzystają z technologii e-zdrowie, która przyczynia się do poprawy edukacji terapeutycznej, pozwalającej im m.in. na lepsze zrozumienie mechanizmu danej choroby przewlekłej. Pacjenci doceniają również możliwość otrzymania spersonalizowanego wsparcia oraz opieki, która dzięki temu staje się skuteczniejsza. Zwiększa się także efektywność monitorowania historii objawów wraz z postępem choroby i zastosowanym leczeniem. Wykazano, że regularne monitorowanie pacjentów z RZS w celu wykrycia zaostrzeń choroby poprawia rokowanie, a pacjenci i opiekunowie wyrażają wysoki poziom zadowolenia z korzystania z telemedycyny bezskargi i najmniej skłóceń informacji o swoim stanie zdrowia w porównaniu z tradycyjnymi konsultacjami. Potwierdzone zostało to w badaniu przeprowadzonym przez naukowców z Uniwersytetu Oksfordzkiego, udowadniającym poprawę jakości życia pacjentów korzystających z telemonitoringu oraz redukcję kosztów leczenia¹⁶.

Telemedycyna umożliwiła również regularne monitorowanie pacjentów z RZS z wykorzystaniem ciągłego pomiaru biomarkerów i oceny ilościowej ruchu pacjenta przy użyciu akrymetrów. Badanie pilotażowe wykorzystujące uczenie maszynowe wykazało, że aktywność fizyczna była silnie powiązana z zaostrzeniami choroby oraz, że wzorce aktywności fizycznej można wykorzystać do przewidywania zaostrzeń stanu pacjenta z czułością i swoistością powyżej 95%¹⁷.

5.2. Ograniczenia

Pomimo tego, że telemedycyna może zastąpić fizyczną wizytę u lekarza specjalisty, paradoksalnie niektóre badania wykazały, że zastosowanie telemedycyny nie zmniejszyło częstotliwości konsultacji twarzą w twarz z lekarzem¹⁸.

Należy pamiętać, że zdalne konsultacje nie powinny mieć wpływu na wzajemne zaufanie między pacjentem a lekarzem. Ponadto wstępna ocena każdej choroby reumatycznej, która wymaga szczegółowej i dokładnej oceny klinicznej, a także niektórych chorób reumatycznych innych niż stany artretyczne (takich jak tocień, twardzina układowa i zapalenie naczyń), gdzie bezpośrednia komunikacja między pacjentem, a lekarzem jest niezbędna do optymalnego zrozumienia choroby, zasługuje na niezastąpione miejsce w konsultacji lekarskiej. Biorąc to pod uwagę, telemedycyna nie może mieć zastosowania we wszystkich przypadkach. Zwrócono także uwagę na różne inne czynniki ograniczające, takie jak: obawa o niewystarczającą ochronę wrażliwych danych, jakimi są dane medyczne, nieodpowiedni nadzór prawny, niepewność co do warunków refundacji, trudności w długoterminowej obserwacji, czy nawet niewystarczająca edukacja terapeutyczna pacjentów, wynikająca z braku wiedzy medycznej¹⁹. Dostęp do telemedycyny musi być uogólniony i powszechny, aby większość pacjentów nie spotykała problemów związanych z jej użytkowaniem. Wśród głównych celów powinny znaleźć się: wykluczenie potencjalnie niebezpiecznych aplikacji, które nie zostały poddane kontroli oraz ochrona bezpieczeństwa pacjentów w postaci przeznaczonych do tego celu narzędzi informatycznych.

6. Przyszłość telemedycyny - sztuczna inteligencja i uczenie maszynowe

Sztuczna inteligencja (*Artificial Intelligence, AI*) to dziedzina, w której poprzez połączenie informatyki i stabilnych zbiorów danych możliwe jest rozwiązywanie problemów. W tym celu wykorzystuje się komputery do naśladowania charakterystycznych dla ludzkiego umysłu zdolności rozwiązywania zadanych zagadnień oraz podejmowania decyzji. Jednym z obszarów AI jest uczenie maszynowe (*Machine Learning, ML*), które umożliwia systemom komputerowym uczenie się i tworzenie modeli predykcyjnych na podstawie danych oraz poprzez wykorzystanie algorytmów, metod i procesów, odkrywanie ukrytych powiązań w danych i tworzenie narzędzi opisowych, predykcyjnych lub nakazowych²⁰. W ostatnich latach ML cieszy się dużym zainteresowaniem i znajduje coraz większe zastosowanie w medycynie. Ostatecznym celem ML jest przyspieszenie procesu diagnostycznego, poprawa opieki nad pacjentem, a także ułatwienie podejmowania decyzji klinicznych²¹. W odniesieniu do reumatologii ML w oparciu o szereg źródeł, w tym dane kliniczne, biologiczne i radiologiczne, wykazało swój potencjał i znalazło zastosowanie w różnych aspektach tych złożonych i niejednorodnych chorób, m.in. wykazano skuteczność ML w rozpoznawaniu na podstawie rezonansu magnetycznego stawów kolanowych²² różnych

fenotypów morfologicznych choroby zwyrodnieniowej stawów (osteoarthritis, OA) oraz przewidywanie jej progresji. Ponadto prowadzone są badania oparte o elektroniczną dokumentację medyczną, z wykorzystaniem technologii AI i ML w medycynie, w celu prognozowania przyszłych wyników leczenia RZS, takich jak śmiertelność lub stan aktywności fizycznej pacjentów^{23,24}. Jednak zgodnie z najnowszą wiedzą opartą o artykuł naukowców z *Harvard Medical School* w Bostonie z 2020r., AI oraz ML nie są powszechnie wykorzystywane w typowej praktyce klinicznej w dziedzinie reumatologii, co głównie ograniczone jest niedostateczną jakością danych, na podstawie których opracowywane są modele głębokiego uczenia²⁵.

Stworzenie modelu opartego o współpracę doświadczonych lekarzy z pacjentami przyczyniłby się do rozwoju oraz integracji telemedycyny z codzienną praktyką kliniczną²⁶. Obecnie wykorzystywanie danych z aplikacji społecznościowych łączących pacjentów, może być podstawą do różnicowania potrzeb konkretnych grup chorych i zapewniania spersonalizowanych strategii²⁷. Tak stworzone narzędzie, prowadzące pacjentów zdalnie, pozwoliłoby nie tylko zoptymalizować wykorzystanie technologii w leczeniu ale także ocenić jej ograniczenia i w razie potrzeby połączyć ją z fizyczną opieką medyczną.

7. Podsumowanie

Bez wątpienia wykorzystanie technologii cyfrowych w opiece zdrowotnej staje się rosnącym trendem w praktyce reumatologicznej. Dostępne urządzenia są zróżnicowane i poddawane ciągłym modyfikacjom tak, aby stały się jeszcze bardziej skuteczne w diagnostyce chorób, procesie leczenia oraz monitorowania stanu pacjenta. Eksplozja telemedycyny niesie za sobą także nowe wyzwania dla władz, przemysłu oraz lekarzy, którzy muszą dostosować się do innowacyjnych technologii i nauczyć się jak z nich korzystać, aby zmaksymalizować korzyści dla pacjenta. Również sami użytkownicy powinni w sposób odpowiedzialny korzystać ze wszystkich rozwiązań jakie oferuje stale zmieniający się świat technologii, jako że udostępniane przez nich dane zaliczane są do kategorii danych wrażliwych. Szybko rosnące potrzeby i oczekiwania konsumentów nakładają na producentów wymogi nie tylko elastycznego dopasowania się do nowych sytuacji rynkowych ale również stałe ulepszanie ochrony danych aby nie dopuścić do naruszeń prywatności w tym zakresie. Zwiększający się udział osób starszych w społeczeństwie, a także problem z dostępnością do opieki medycznej na terenach wiejskich, staje się wyzwaniem dla rynków technologicznych. W takich sytuacjach udział telemedycyny może

przyczynić się do poprawy jakości życia pacjentów zmagających się z chorobami reumatologicznymi, a także wspomóc komunikację na linii lekarz-pacjent.

Referencje

1. Khemapech I. (2019) Telemedicine – Meaning, Challenges and Opportunities, *Siriraj Medical Journal* 71(3):246-252
2. Krusche M. Telemedicine: a solution for everyone? *Nat Rev Rheumatol.* 2022 Feb 18; 1-2
3. Gkrouzman, E., Wu, D.D., Jethwa, H. *et al.* Telemedicine in Rheumatology at the Advent of the COVID-19 Pandemic. *HSS Jnl* 16, 108–111 (2020).
4. Olivero E., Bert F., Thomas R. *et al.* E-tools for hospital management: An overview of smartphone applications for health Professionals. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30784427/> *Int J Med Inform.* 2019 Apr;124:58-67
5. Krusche M., Ruffer N., Grahammer M. *et al.* Apps und ihre Anwendungsgebiete in der Rheumatologie, *Z Rheumatol* 2020 · 79:554–561
6. Mollard E., Michaud K. Mobile Apps for Rheumatoid Arthritis Opportunities and Challenges. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 2019-05-01, Volume 45, Issue 2, Pages 197-209
7. Austin L., Sharp Ch., van der Veer S. *et al.* Providing ‘the bigger picture’: benefits and feasibility of integrating remote monitoring from smartphones into the electronic health record. *Rheumatology* 2020;59:367378
8. Lv Q., Jiang Y., Qi J. *et al.*, Using Mobile Apps for Health Management: A New Health Care Mode in China. *JMIR Mhealth Uhealth* 2019;7(6):e10299
9. Lu L, Zhang J, Xie Y *et al.*, Wearable Health Devices in Health Care: Narrative Systematic Review *JMIR Mhealth Uhealth* 2020;8(11):e18907
10. Kataria S, Ravindran V. Emerging role of eHealth in the identification of very early inflammatory rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2019 Aug;33(4):101429

11. Matcham F., Hotop M., Galloway J., Mobile apps, wearables and the future of technology in rheumatic disease care, *Rheumatology*, Volume 58, Issue 7, July 2019, Pages 1126–1127,
12. Davergne, T., Kedra, J. & Gossec, L. Wearable activity trackers and artificial intelligence in the management of rheumatic diseases. *Z Rheumatol* 80, 928–935 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00393-021-01100-5>
13. Yujie S., Laurène B., Christian J. The Challenges of Telemedicine in Rheumatology, *Front. Med.*, 13 October 2021
14. Gossec L., Guyard F. , Leroy D. et al. Detection of Flares by Decrease in Physical Activity, Collected Using Wearable Activity Trackers in Rheumatoid Arthritis or Axial Spondyloarthritis: An Application of Machine Learning Analyses in Rheumatology, *Arthritis Care and Research*, Volume 71, Issue10, October 2019, Pages 1336-1343
15. Opinc, A., Łukasik, Z. and Makowska, J. (2020) "The attitude of Polish rheumatology patients towards telemedicine in the age of the COVID-19 pandemic", *Reumatologia/Rheumatology*, 58(3), pp. 134-141. doi: 10.5114/reum.2020.96665.
16. Pers, Y. et al. (2020) "A randomized prospective open-label controlled trial comparing the performance of a connected monitoring interface versus physical routine monitoring in patients with rheumatoid arthritis", *Rheumatology*, 60(4), pp. 1659-1668. doi: 10.1093/rheumatology/keaa462.
17. Davergne, T. et al. (2020) "Wearable Activity Trackers in the Management of Rheumatic Diseases: Where Are We in 2020?", *Sensors*, 20(17), p. 4797. doi: 10.3390/s20174797.
18. Shigekawa E, Fix M, Corbett G, Roby DH, Coffman J. The current state of telehealth evidence: a rapid review. *Health Aff.* (2018) 37:1975– 82. doi: 10.1377/hlthaff.2018.05132
19. De Thurah A, Stengaard-Pedersen K, Axelsen M, Fredberg U, Schougaard LMV, Hjollund NHI, et al. Tele-health followup strategy for tight control of disease activity in rheumatoid arthritis: results of a randomized controlled trial. *Arthritis Care Res.* (2018) 70:353–60. doi: 10.1002/acr.23280

20. Yu KH, Beam AL, Kohane IS. Artificial intelligence in healthcare. *Nat Biomed Eng.* (2018) 2:719–31. doi: 10.1038/s41551-018-0305-z
21. Gossec, L. et al. (2019) "EULAR points to consider for the use of big data in rheumatic and musculoskeletal diseases", *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(1), pp. 69-76. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215694.
22. Matcham, F., Hotopf, M. and Galloway, J. (2018) "Mobile apps, wearables and the future of technology in rheumatic disease care", *Rheumatology*, 58(7), pp. 1126-1127. doi: 10.1093/rheumatology/key391.
23. Lezcano-Valverde, J. et al. (2017) "Development and validation of a multivariate predictive model for rheumatoid arthritis mortality using a machine learning approach", *Scientific Reports*, 7(1). doi: 10.1038/s41598-017-10558-w.
24. Norgeot, B. et al. (2019) "Assessment of a Deep Learning Model Based on Electronic Health Record Data to Forecast Clinical Outcomes in Patients With Rheumatoid Arthritis", *JAMA Network Open*, 2(3), p. e190606. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.0606.
25. Solomon, D. and Rudin, R. (2020) "Digital health technologies: opportunities and challenges in rheumatology", *Nature Reviews Rheumatology*, 16(9), pp. 525-535. doi: 10.1038/s41584-020-0461-x.
26. *Telehealth | NEJM* (2022). Available at: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMSr1503323> (Accessed: 8 March 2022).
27. Parker, S. et al. (2018) "Electronic, mobile and telehealth tools for vulnerable patients with chronic disease: a systematic review and realist synthesis", *BMJ Open*, 8(8), p. e019192. doi: 10.1136/bmjopen-2017-019192.
28. (2022) *Ncbi.nlm.nih.gov*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7223265/pdf/kez207.pdf>

JAK STWORZYĆ LEPSZE SZCZEPIONKI PRZECIW GRYPIE?

MARCIN GOŁAWSKI, JOANNA SOBOTA, GRZEGORZ MACHELSKI

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

Abstrakt:

Pomimo lat badań, nadal nie jest dostępna szczepionka przeciwko grypie, która zapewniłaby odporność przeciw wszystkim jej szczepom. Obecnie stosowane szczepionki zapewniają dość wąski zakres odporności i wymagają zmiany składu co roku, w związku z wysoką zmiennością wirusa. Większość z dostępnych obecnie szczepionek to szczepionki inaktywowane produkowane z wykorzystaniem zapłodnionych jaj kurzych. Są efektywne głównie przeciw szczepom grypy spokrewnionych z tym, który zawierają, ponieważ wywołują odpowiedź immunologiczną skoncentrowaną na immunodominującej, ale wysoce zmiennej główce hemagglutyniny. By zapewnić odporność przeciwko szerokiemu zakresowi wirusów grypy, konieczne jest zastosowanie innej strategii opracowywania szczepionek. Przykładowo, możliwa jest optymalizacja hemagglutyniny wirusa w kierunku zapewnienia szerszego zakresu odporności. Alternatywnie można skierować odpowiedź immunologiczną w kierunku łodygi hemagglutyniny, neuraminidazy i egzodomeny białka M2, które wykazują mniejszą zmienność pomiędzy szczepami grypy. Wywołanie silnej odpowiedzi komórkowej, na przykład za pomocą szczepionek wektorowych, również może znacznie zwiększyć skuteczność ochrony przed infekcją. Pomimo tego, że takie bardziej uniwersalne szczepionki przeciw grypie wymagają dalszych badań, w tym badań klinicznych, to są szansą na skuteczniejsze zapewnienie ochrony przed chorobą, która wywołuje ponad 300000 zgonów na świecie rocznie, a także na zniesienie konieczności ścisłego monitorowania zakażeń nowymi szczepami grypy i dostosowywania składu szczepionek.

Słowa kluczowe: grypa, uniwersalna, szczepionka

Abstract:

Despite years of research, there is still no influenza vaccine available, which would grant immunity against all its strains. Currently used vaccines confer only a limited immune coverage and require yearly updates to their composition due to variable nature of the virus. Most of the currently available vaccines are inactivated vaccines grown in embryonated chicken eggs. They are effective against the influenza strains similar to one contained in the vaccine, since they elicit an immune response primarily against immunodominant but highly variable hemagglutinin head. A different strategy is required to elicit a broader immunity. For example, hemagglutinin may be optimized to elicit a broader immune response. Alternatively, immune response may be directed towards hemagglutinin stalk, neuraminidase or M2 exodomain, which exhibit less variability between strains. A strong cellular immunity elicited by vectored vaccines may also greatly increase immunity against infection. Despite the fact that more universal influenza vaccines require further research including clinical trials, they offer a promise to combat the disease that causes 300000 deaths annually more effectively and make constant and meticulous immunosurveillance for the purposes of adjusting vaccine composition obsolete.

Keywords: influenza, universal, vaccine

1. Wprowadzenie

Grypa jest wywoływana przez wirusy grypy. Są to wirusy o segmentowanym genomie składającym się z siedmiu lub ośmiu nici RNA o ujemnej polaryzacji. Wirusy grypy danego typu mogą ulegać procesowi reasortacji, w którym po wnikięciu do jednej komórki dwóch wirionów potomne cząstki zakaźne mogą zawierać dowolne kombinacje segmentów RNA z macierzystych wirusów. Wirusy grypy należą do czterech typów: A, B, C i D; przy czym C wywołuje głównie łagodne infekcje, a D nie wydaje się zarażać ludzi¹⁻³. Wirusy grypy typu A dzielą się na subtypy w zależności od tego, jakie geny hemaglutyniny (jeden z 16) i neuraminidazy (jeden z dziewięciu) zawierają. W chwili obecnej, w populacji ludzkiej cyrkulują wirusy zawierające hemaglutyninę i neuraminidazę 1 i 1 oraz 3 i 2 (H1N1 oraz H3N2). W latach 1957-1968 jedynymi wirusami grypy typu A masowo zarażającymi ludzi były jednak wirusy H2N2. W przeciwieństwie do grypy typu B i C, wirusy grypy typu A powszechnie zarażają nie tylko ludzi, ale i inne ssaki oraz ptaki. W związku z tym w populacji ludzkiej odnotowywano zakażenia odzwierzęce grypami typu A należącymi do innych subtypów: ptasimi H5N1, H5N6, H7N2, H7N9, H7N4 H9N2, H10N8 oraz świńskim H1N2. Wirusy grypy B, C i D nie dzielą się na subtypy. W wyniku dywergentnej ewolucji, wirus grypy typu B rozdzielił się jednak w latach siedemdziesiątych na antygenowo różne grupy szczepów B/Victoria/2/1987-podobnych i B/Yamagata/16/1988-podobnych, infekcje którymi nie zapewniają odporności krzyżowej^{1,4-6}.

Nazewnictwo szczepów wirusa grypy wygląda następująco: A/Turkey/Ontario/6118/1968 (H8N4) jest izolatem nr 6118 grypy typu A, podtypu H8N4 wyizolowanym od indyka w Ontario w 1968 roku. Gdy gatunek zwierzęcia, od którego wyizolowano wirusa nie jest podany, izolat uzyskano od człowieka¹.

Wirus grypy wykazuje dużą zdolność do akumulowania z czasem nowych mutacji, co sprzyja ucieczce przed humoralną odpowiedzią immunologiczną, a w mniejszym stopniu też odpowiedzią komórkową. Wymusza to regularną zmianę wirusów lub antygenów zawartych w szczepionkach. Selekcji odpowiednich wirusów dokonują Światowa Organizacja Zdrowia oraz odpowiednie organizacje krajowe i regionalne. Obecnie stosowane szczepionki przeciw grypie sezonowej zawierają antygeny pochodzące z wirusa typu A H1N1, A H3N2 oraz jednego lub dwóch szczepów wirusa typu B^{1,7}.

Grypa A i B wykazuje dwa sezony epidemiczne, przypadające na listopad-luty oraz maj-październik odpowiednio na półkuli północnej i południowej.

Cyrkulacja wirusów w tropikach nie wykazuje takiej sezonowości. Ponadto wirus grypy typu A co około 10-50 lat wywołuje pandemie. Wiąże się to z powstawaniem nowych, odzwierzęcych szczepów wirusa, które nie są antygenowo spokrewnione z poprzednio występującymi wirusami. Ponieważ u większości osób brak jest odpowiedniej odporności wobec nowego wirusa, zwiększone są zaraźliwość oraz ryzyko cięższego przebiegu choroby. W związku z tym, oprócz szczepionek przeciwko grypie sezonowej, wyróżnia się też szczepionki przeciwko grypie pandemicznej, skierowane przeciwko jednemu, nowemu szczepowi wirusa^{1,8}.

Powierzchnia wirionu wirusa grypy pokryta jest przede wszystkim przez hemagglutyninę i neuraminidazę, które są białkami. Hemagglutynina ma za zadanie wiązanie receptora wirusowego, jakim są reszty kwasu sialowego zawartego w glikanach na powierzchni komórek człowieka. Ponadto odpowiada ona też za fuzję wirionu z endosomem, co pozwala na uwolnienie materiału genetycznego wirusa do cytoplazmy. Neuraminidaza usuwa reszty kwasu sialowego z glikanów, co niszczy receptory wirusowe w zakażonych komórkach. Umożliwia to efektywne opuszczanie ich przez nowopowstałe wirusy. Hemagglutynina i neuraminidaza są najbardziej zmiennymi białkami wirusa grypy. Obydwie składają się z charakterystycznych podjednostek główki i łodygi^{1,9,10}.

Kolejnym komponentem wirionu wirusa grypy jest białko M1, które odpowiada za składanie wirionów i ustalanie ich struktury¹¹. Białko M2 jest kanałem jonowym selektywnym dla protonów. Wydaje się odpowiadać za acydyfikację wnętrza wirionu po wnikięciu do endosomu. Umożliwia to uwalnianie cząsteczek RNA i białek wirusa¹².

RNA wirusa grypy tworzy kompleksy z następującymi białkami: PA, PB1 i PB2 oraz nukleoproteiną (NP). Kompleksy te nazywane są rybonukleoproteinami. Komponenty białkowe rybonukleoprotein grypy są odpowiedzialne za:

- transkrypcję wirusowego RNA z wytworzeniem mRNA;
- replikację wirusowego RNA, gdzie stadium pośrednim jest kompleksy RNA o odwrotnej polaryzacji;
- przemieszczanie wirusowego RNA z wirionów do jądra komórkowego;
- transport i pakowanie wirusowego RNA do wirionów.

W eksporcie wirusowego RNA uczestniczy też białko M1 oraz białko NEP, zwane też NS2¹³. Białko NS1 odpowiedzialne jest za hamowanie odpowiedzi przeciwwirusowej ze strony komórek gospodarza¹⁴.

W cyklu replikacji wirusa grypy na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż wirus odcina czapeczki od komórkowego mRNA i używa ich jako starterów do syntezy własnego mRNA¹⁵.

W przyczynowym leczeniu grypy mają zastosowanie trzy klasy leków. Pierwszą z nich są inhibitory kanału M2 takie jak amantadyna i rymantadyna. Częsta oporność i działania niepożądane sprawiły, że obecnie są one rzadko wykorzystywane. Kolejną są inhibitory neuraminidazy. Należą do nich: oseltamiwir, przyjmowany doustnie; zanamiwir, podawany w inhalacjach; oraz peramiwir, stosowany dożylnie. Do ostatniej klasy należy marboksyylan baloksawiru, hamuje on odcinanie czapeczek z mRNA gospodarza^{16–18}.

W chwili obecnej stosowanych jest kilka metod produkcji szczepionek. Najstarszą i najbardziej prymitywną, lecz powszechnie używaną jest namnażanie wirusa grypy w jajach kurzych. Obecnie stosuje się reasortanty wirusa grypy zawierające geny hemaglutyniny i neuraminidazy ze szczepu, przeciwko któremu skierowana jest szczepionka, a pozostałe geny ze szczepu dostosowanego do wzrostu w jajach kurzych. Po wprowadzeniu do jaja, wirusy namnażają się w jamie tworzonej przez błonę *Chorioallantois*. Po namnożeniu się wirusa, ciecz z tej jamy jest zbierana, a wirusy z niej oczyszczane. Kolejnym etapem jest inaktywacja; obecnie stosuje się metody, które całkowicie rozszczepiają wiriony, co zmniejsza działania nieporządane związane ze szczepieniem^{1,19}.

Innym rozwiązaniem jest wykorzystanie wirusów namnażanych w komórkach psich MDCK. Choć szczepionki otrzymywane tą metodą nie wydają się być bardziej skuteczne, to ta alternatywna metoda produkcji jest bardziej ekonomiczna i potencjalnie pozwala szybciej dostosować skład szczepionki do pandemicznych szczepów grypy^{1,19–21}.

Białka wirusa grypy mogą być też produkowane w komórkach owadzych. Ekspresję hemaglutyniny uzyskuje się poprzez wykorzystanie bakulowirusów jako wektorów dla jej genu. Tak otrzymany antygen różni się glikozylacją i strukturą od hemaglutyniny otrzymywanej w wyniku namnażania wirusa. Z niektórych badań wynika, że tak otrzymywane białko zapewnia odporność przeciw szerszej gamie szczepów grypy. Dodatkowo, antygeny tak otrzymane nie muszą być poddawane tak dokładnemu oczyszczaniu lub inaktywacji, w przeciwieństwie do białek uzyskiwanych z żywych wirusów^{1,19,22,23}.

Niektóre inaktywowane szczepionki przeciwko grypie zawierają adjuwanty w celu zwiększenia immunogenności. Te obecnie stosowane to związki glinu oraz emulsje lipidów takie jak MF59 i AS03. Sugeruje się, że adjuwant AS03 zawarty w pandemicznej szczepionce przeciwko grypie A H1N1 z 2009 roku był częściowo odpowiedzialny za rzadkie działanie niepożądane w postaci

narkolepsji u zaszczepionych młodych osób ²⁴. Stosowanie adjuwantów jest powszechne w badaniach eksperymentalnych szczepionek przeciwko grypie. Ze względu na złożoność tematu, jakim jest mechanizm działania adjuwantów i ich wpływ na immunogenność szczepionek, nie będzie on kompleksowo omawiany w dalszej części rozdziału.

Wymienione powyżej rozwiązania służą otrzymywaniu domięśniowych szczepionek inaktywowanych lub rekombinowanych. Do obrotu dopuszczone są też szczepionki atenuowane podawane donosowo.

Szczepionki atenuowane przeciwko grypie zawierają wirusy adaptowane do zimna. Warunkuje to słabsze namnażanie się wirusa w temperaturze spotykanej w płucach człowieka, ale w mniejszym stopniu wpływa to na replikację w jamie nosowej. Sprawia to, że wirusy takie nie wywołują ciężkiej choroby. Szczepionki atenuowane również otrzymywane są w zapłodnionych jajach kurzych. Stosowane w nich wirusy są reasortantami, które zawierają sześć segmentów RNA warunkujących adaptację do zimna. Pozostałe dwa segmenty, które kodują hemaglutyninę i neuraminidazę, pochodzą ze szczepu, przeciwko któremu skierowana jest szczepionka. Szczepionki te stosowane są głównie u dzieci i młodzieży poniżej 18 roku życia, ze względu na wyższą skuteczność u tej grupy osób. W wypadku dorosłych skuteczność szczepionki atenuowanej wydaje się taka sama lub niższa, z tego powodu nie znalazła ona zastosowania w tej grupie pacjentów ^{1,19,25-27}.

Za odporność nabytą przeciwko grypie odpowiada kilka mechanizmów. Komórki pamięci T CD4 (pomocnicze) nasilają odpowiedź komórek typu B i T CD8 (cytotoksycznych) ^{16,17}. Komórki T CD8 odpowiadają za efektywną eliminację wirusa i zainfekowanych komórek, a główne epitopy przez nie rozpoznawane znajdują się w białku NP, M1 i polimerazie wirusa ²⁸⁻³⁰. Przeciwciała neutralizujące stanowią kolejny element ochrony przed wirusem grypy. Większość z nich skierowana jest przeciwko główce hemaglutyniny, gdyż zawiera ona immunodominujące epitopy ³¹⁻³³. Niestety, jest to najbardziej zmienny fragment wirusa. Przeciwciała neutralizujące mogą też być nakierowane na bardziej konserwowane epitopy zawarte w neuraminidazie i łożdźce hemaglutyniny. Przeciwciała neutralizujące mogą mieć różne mechanizmy działania, takie jak: blokowanie interakcji hemaglutyniny z receptorem, blokowanie fuzji i hamowanie aktywności neuraminidazy. Przeciwciała nieneutralizujące także mogą pełnić funkcję ochronną - odpowiada za to cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał (Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity, ADCC). Przeciwciała nieneutralizujące mogą być skierowane nie tylko przeciw hemaglutyninie i neuraminidazie ale i przeciwko

egzodomenie białka M2^{34–39}. Badania na zwierzętach sugerują, że w celu wywołania odporności sterylizującej niezbędna jest odpowiednia odpowiedź immunologiczna w błonach śluzowych, a nie tylko odpowiedź systemowa⁴⁰. W wypadku grypy obserwuje się istotny wpływ poprzednich infekcji na odpowiedź immunologiczną przy ponownym kontakcie z jej antygenami. W szczególności infekcje w dzieciństwie mogą sprzyjać zdobywaniu odporności przeciw podobnym szczepom, ale utrudniają nabycie jej przeciw szczepom odmiennym^{1,41,42}.

W niniejszym rozdziale zostaną omówione strategie pozwalające na otrzymanie skuteczniejszych szczepionek przeciwko grypie. Szczepionki te będą mieć charakter szczepionek uniwersalnych, to jest takich, które potencjalnie mogą być skuteczne przeciwko wszystkim wirusom grypy, a przynajmniej przeciw wszystkim wirusom grypy danego typu, podtypu, czy chociaż znacznej części wirusów występujących w kolejnych latach.

2. Zoptymalizowane antygenowo białko hemaglutyniny

Jednym z możliwych rozwiązań zapewniających szerszy zakres ochrony przed grypą jest zastosowanie w szczepionce tak zaprojektowanej hemaglutyniny, by wywoływała ona odpowiedź skuteczną przeciw szerszemu zakresowi szczepów.

Przykładowo Giles i wsp. opracowali komputerową metodę projektowania antygenów COBRA (computationally optimized broadly reactive antigens; komputerowo zoptymalizowane szeroko reaktywne antygeny). W metodzie tej najpierw otrzymywana jest konsensualna sekwencja aminokwasów białka dla subkladów wirusa, a następnie tworzona jest na ich podstawie konsensualna sekwencja drugiego rzędu. Metoda ta została zastosowana do opracowania hemaglutyniny w oparciu o sekwencje tych wirusów A/H5N1, które izolowano od ludzi. Badacze wykorzystali tak zaprojektowaną hemaglutyninę do produkcji cząsteczek wirusopodobnych, które zawierały też białko M1 i neuraminidazę. Cząsteczki te wykorzystano do zaszczepienia fretek i myszy. Hemaglutynina zaprojektowana metodą COBRA umożliwiła badanym zwierzętom uzyskanie szerokiego zakresu odpowiedzi humoralnej przeciw wszystkim subkladom wirusa H5N1 izolowanym od ludzi. Ponadto, była bardziej immunogenna i lepiej chroniła przed replikacją wirusa w czasie infekcji u fretek i myszy, niż mieszanina 3 rodzajów cząstek wirusopodobnych zawierających hemaglutyniny H5 dzikiego typu. Zwierzęta były też chronione przed śmiertelną infekcją w wyniku zarażenia wysoce patogenным wirusem

H5N1 A/Whooper Swan/Mongolia/244/2005^{43,44}. Skuteczność tak opracowanej szczepionki potwierdzono też u makaków⁴⁵.

Metodę COBRA Carter i wsp. zastosowali wobec hemaglutyniny wirusów A H1N1. Stworzyli oni dziewięć konsensualnych sekwencji hemaglutyniny H1 na podstawie wirusów izolowanych w różnych okresach od ludzi i świń. Myszy zaszczepione cząstkami wirusopodobnymi zawierającymi hemaglutyniny o konsensualnej sekwencji wykazywały odporność humoralną przeciw szerzej gamie wirusów A H1N1, niż myszy szczepione cząstkami zawierającymi hemaglutyninę typu dzikiego. Niektóre hemaglutyniny o konsensualnej sekwencji nie zapewniały jednak satysfakcjonującej odpowiedzi immunologicznej. Dalsze rozszerzenie zakresu odporności uzyskiwano poprzez zastosowanie szczepionek łączących dwie różne hemaglutyniny lub stosując szczepionkę zawierającą inną hemaglutyninę COBRA jako dawkę przypominającą. Niestety, żadna z tak uzyskanych szczepionek nie pozwalała na uzyskanie odporności przeciwko pełnemu panelowi 14 badanych wirusów A H1N1⁴⁶.

Z kolei Wong i wsp. zastosowali metodę COBRA dla hemaglutyniny wirusów A H3N2 izolowanych w różnych okresach. Stosowali oni szczepionki zawierające hemaglutyninę i neuraminidazę osadzone na rdzeniu pochodzącym z wirusa HIV. W tym wypadku wiele konstruktów okazało się wywoływać dość niekorzystny profil odpowiedzi humoralnej, która była słaba i nie neutralizowała szerokiego zakresu wirusów. Niemniej, jedna z zaprojektowanych hemaglutynin, oparta na sekwencjach wirusów z lat 2011–2013, zapewniała dość szeroki zakres odporności, szczególnie przeciw wirusom izolowanym w latach 2005–2014.

Podobne podejście w celu zapewnienia szerokiego zakresu odporności przeciwko wirusom grypy zastosowali Ping i wsp., którzy stworzyli sekwencję konsensualną hemaglutyniny o nazwie CH1 na podstawie 2656 sekwencji hemaglutyniny H1. Plazmid kodujący ten konstrukt został wykorzystany jako szczepionka DNA u myszy i wywoływał silną odpowiedź komórkową przeciwko zróżnicowanym szczepom wirusa, ale odpowiedź humoralna w stosunku do wirusów wyizolowanych po pandemii z 2009 roku była słaba. Lepszy rezultat osiągnięto łącząc plazmid DNA kodujący CH1 z plazmidem kodującym hemaglutyninę wirusa A/Sichuan/1/2009(H1N1). Badacze opracowali też atenuowany wirus zawierający hemaglutyninę CH1. Szczepionka żywa zawierająca go skutecznie chroniła myszy przed śmiertelnym przebiegiem infekcji wirusami wyizolowanymi w różnych okresach, w tym przed wirusem z 2009 roku i wirusami z lat 2014 i 2015⁴⁷.

Podsumowując, opracowane różnymi metodami białka hemaglutyniny o konsensualnych sekwencjach mogą pozwalać na zapewnienie szerszego zakresu odporności, niż hemaglutynina pochodząca z dzikich wirusów. Wydaje się jednak, że zakres uzyskiwanej odporności może być ciężki do przewidzenia i nie zawsze satysfakcjonujący.

3. Szczepienie nakierowane na łądygę hemaglutyniny

Hemaglutynina zawiera liczne epitopy dla przeciwciał neutralizujących. Większość przeciwciał przeciw hemaglutyninie rozpoznaje epitopy na jej główce. Jednak jej łądyga również może być celem przeciwciał neutralizujących, a przy tym wykazuje znacznie mniejszą zmienność. Uzyskanie silnej odpowiedzi przeciwko tej podjednostce hemaglutyniny wymaga jednak odmiennej strategii opracowania szczepionki⁴⁸.

Powstawanie przeciwciał przeciwko łądydze hemaglutyniny obserwowano u zwierząt i ludzi w wypadku szczepionek wektorowych opartych na adenowirusie 5, szczepionek DNA i szczepionkach opartych na nanocząstkach pokrytych hemaglutyniną. Ponadto, przeciwciała przeciwko łądydze hemaglutyniny obserwowano po zaszczepieniu ludzi szczepionką przeciw grypie A H5N1 i A H7N1^{49–55}. Sugeruje się też, że indukowanie przeciwciał przeciwko łądydze hemaglutyniny przyczyniło się do eliminacji wirusów H1N1 sprzed pandemii grypy z 2009 roku. Przeciwciała te indukowała zarówno naturalna infekcja jak i szczepionka przeciw grypie pandemicznej^{56,57}.

Oczywistą metodą ograniczenia odpowiedzi immunologicznej wobec główki hemaglutyniny na rzecz łądygi jest zastosowanie hemaglutyniny pozbawionej główki. Uniemożliwia to jednak zastosowanie żywych wirusów w celu produkcji szczepionki.

Jedna z grup badawczych zaprojektowała hemaglutyninę H1 wirusa H1N1 A/New Caledonia/20/1999 pozbawioną główki, której struktura była stabilizowana poprzez dodatkowe mutacje w łądydze. Ponadto, w celu zwiększenia immunogenności, białko to zostało połączone z ferrytyną *Helicobacter pylori*. Miało to na celu sprawienie, że łądygi hemaglutyniny będą prezentowane na powierzchni nanocząstki z rdzeniem ferrytynowym, co potencjalnie zwiększa immunogenność białka. Szczepienie myszy i fretek tą szczepionką zapewniło wysokie miano przeciwciał neutralizujących różne szczepy wirusa A H1N1. Myszy i część fretek były też skutecznie chronione przed śmiertelną infekcją wirusem A H5N1⁵⁸.

Ta sama grupa opracowała też stabilizowane, nanocząstkowe łądgi hemaglutynin H3 i H7 wirusów H3N2 A/Finland/486/2004 i H7N9 A/Shanghai/2/2013. Pozwoliły one uzyskać myszom skuteczną odporność przed śmiertelną infekcją wirusami H3N2 A/Wisconsin/67/2005 i H7N9 A/Anhui/1/2013 ⁵⁹.

Badania nad hemaglutyniną pozbawioną główki prowadzili też Impagliazzo i wsp., którzy opracowali stabilizowaną, trimeryczną formę łądgi hemaglutyniny wirusa H1N1 A/Brisbane/59/2007. Szczepionka zawierająca ją zapewniła silną odpowiedź immunologiczną u myszy i ochronę przed śmiertelnym zakażeniem wirusami H1N1 A/Puerto Rico/8/34 oraz H5N1 A/Hong Kong/156/97. Szczepionka ta zapewniła również makakom krabożernym ochronę przed infekcją wirusem H1N1 A/Mexico/InDRE4487/2009. Niemniej, komercyjna szczepionka przeciwko grypie dostosowana do tego szczepu również okazała się skuteczna. Jednak tylko surowica makaków zaszczepionych łądęgą hemaglutyniny miała zdolność do neutralizacji wirusa H5N1, w przeciwieństwie do makaków szczepionych komercyjną szczepionką.

Inną strategią nakierowaną na otrzymanie silnej odpowiedzi wobec łądgi hemaglutyniny jest zastosowanie hemaglutynin o różnych główkach, lecz wspólnej łądydze w kolejnych dawkach szczepionki. Krammer i wsp. wykorzystali to podejście do stworzenia szczepionek DNA oraz atenuowanych. Myszy szczepione były szczepionkami z łądęgą hemaglutyniny H1 oraz główkami H1, H5, H6 i H9. Szczepionki te skutecznie chroniły przed śmiertelnym przebiegiem infekcji wirusami H1N1, H5N1 i H6N1, pomimo tego, że myszy zarażano tymi wirusami, których główki hemaglutyniny nie były zawarte w szczepionkach ⁶⁰.

Analogiczną strategię Krammer i wsp zastosowali do innej grupy hemaglutynin wirusa grypy. Myszy szczepiono najpierw plazmidem DNA kodującym hemaglutyninę o główce H4 i łądydze H3. Jako kolejne dawki zastosowane białka hemaglutynin o łądygach H3 oraz główkach H5, H3 lub H7. Myszy w większości skutecznie chronione były przed śmiertelnym wynikiem infekcji wirusem A H7N9 oraz H3N2 ^{61,62}.

Opisana wyżej strategia wywoływania odpowiedzi immunologicznej przeciwko łądydze hemaglutyniny została skutecznie zastosowana w badaniu klinicznym u ludzi. Szczepionka żywa atenuowana połączona ze szczepionką inaktywowaną z adjuwantem lub dwie dawki szczepionki z adjuwantem zapewniły silną odpowiedź immunologiczną. Zastosowano hemaglutyninę z główkami H5 i H8 oraz łądęgą H1. Surowica pochodząca od zaszczepionych ochotników zapewniała skuteczną odporność bierną u myszy ^{63,64}.

Z powyższych badań wynika, że nakierowanie odpowiedzi immunologicznej na łądygę hemaglutyniny może być skuteczną strategią szczepień. Uzyskanie przeciwciał neutralizujących może jednak wymagać stosowania adjuwantów i kilku dawek szczepionki ⁶⁵.

4. Szczepionki nakierowane na neuraminidazę

Obecnie stosowane szczepionki przeciw grypie wywołują słabą odpowiedź przeciw neuraminidazie, a co gorsze, nie zawierają nawet standaryzowanej jej ilości ⁶⁶. Niemniej, wysokie miana przeciwciał skierowanych przeciwko temu białku korelują z ochroną przed chorobą ⁶⁷⁻⁶⁹. Co za tym idzie, nowe szczepionki wywołujące silną odpowiedź przeciw neuraminidazie, która jest mniej zmiennym antygenem niż hemaglutynina, mogłyby zapewnić szeroki zakres ochrony przed zakażeniem.

Przykładem prób opracowania szczepionki nakierowanej na neuraminidazę są badania Job i wsp. Opracowali oni konsensualne sekwencje neuraminidazy wirusa A H1N1 z różnych okresów. Białka te zostały następnie wykorzystane do zaszczepienia myszy. Wszystkie lub większość myszy były chronione przed śmiertelną infekcją wirusami H1N1 A/USSR/90/1977, A/New Caledonia/20/1999, A/Brisbane/59/2007, A/Belgium/145-MA/2009 oraz rekombinowanym wirusem H5N1 NIBRG-14. Zakres ochrony był szerszy niż dla neuraminidaz dzikiego typu ⁷⁰.

Metodę COBRA, omówioną przy optymalizacji sekwencji hemaglutyniny, zastosowali też Skarłupka i wsp w celu otrzymania konsensualnych sekwencji główki neuraminidazy N1. Wykorzystali oni w tym celu sekwencje wirusów z lat 1990-2015. Następnie, tetrameryczne główki N1 A/California/07/2009, A/Brisbane/59/2007, A/Swine/North Carolina/154074/2015 i główki o sekwencji konsensualnej zostały wykorzystane do zaszczepienia myszy. Przeciwciała uzyskane w grupie zaszczepionej neuraminidazą zaprojektowaną metodą COBRA wiązały się dość silnie ze wszystkimi neuraminidazami pochodzącymi od badanego panelu wirusów, a także były zdolne hamować ich aktywność enzymatyczną. Myszy zaszczepione tetramerycznymi główkami różnych neuraminidaz w większości były chronione przed śmiercią w wyniku infekcji sezonowym, pandemicznym i świńskim wirusem A H1N1 oraz wirusem A H5N1 ⁷¹.

Czynnikiem utrudniającym zastosowanie rekombinowanych szczepionek opartych na neuraminidazie są trudności w uzyskaniu wysokiej wydajności produkcji tego rekombinowanego białka. W celu stabilizacji tetramerycznej

struktury główki neuraminidazy i poprawy wydajności jego otrzymywania Strohmeier i wsp. połączyli główkę neuraminidazy wirusa H1N1 A/Michigan/45/15 z domeną tetrameryzacji fosfoproteiny wirusa odry. Tak zaprojektowany antygen był immunogeny u myszy, a po zastosowaniu adjuwantu zapewniał ochronę przed infekcją wysoką dawką wirusa A/Singapore/GP1908/2015. Stwierdzono też, że silniejszą ochronę przed replikacją wirusa zapewniało połączenie komercyjnej szczepionki tetrawalentnej przeciwko grypie oraz tetramerycznych główek neuraminidazy, jednak w tym wypadku sama odpowiedź immunologiczna przeciw neuraminidazie była obniżona ⁷².

Można więc wywnioskować, że neuraminidaza jest bardzo interesującym antygenem, który stanowi ważną alternatywę dla hemaglutyniny w kontekście uniwersalnej szczepionki przeciw grypie.

5. Szczepionki nakierowane na ektodomenę białka M2

Oprócz neuraminidazy innym potencjalnym antygenem, którego zastosowanie w szczepionce mogłoby zapewnić szeroki zakres odporności przeciwko różnym wirusom grypy jest ektodomena białka M2 (M2e). Wykazano, że przeciwciała monoklonalne przeciwko M2e redukuje objawy choroby i replikację wirusa grypy u ludzi ⁷³. Przeciwciała przeciwko niej są wytwarzane w ograniczonym stopniu w czasie naturalnej infekcji, ponieważ sama domena M2e jest niezbyt immunogenna.

Jedna ze szczepionek opartych na M2e została zastosowana w badaniu klinicznym. Ochotnikom podawano flagelinę bakterii *Salmonella typhimurium* skoniugowaną z M2e. Flagelina była wykorzystana jako naturalny agonista receptora TLR5 o działaniu adjuwantowym. Antygen był dobrze tolerowany w dawce do 1 µg i dwie takie dawki wywoływały odpowiedź humoralną u większości uczestników ⁷⁴. Skuteczność ochrony zapewnianej przez tę szczepionkę nie była badana u ludzi, ale została potwierdzona w badaniach przeprowadzanych na myszach ⁷⁵.

Inną metodą pozwalającą na zwiększenie immunogenności M2e może być zastosowanie szczepionki DNA. Przykładowo plazmid kodujący trimeryczną domenę M2e skoniugowany z peptydem sygnałowym tkankowego aktywatora plazminogenu skutecznie chronił myszy przed śmiertelnym wynikiem infekcji wirusem H1N1, a częściowo też przed śmiercią w wyniku infekcji wirusami H9N2, H10N8 i H6N6. Koniugacja z peptydem tkankowego aktywatora plazminogenu zwiększa sekrecję białka przez komórki, co korzystnie wpływa na immunogenność szczepionki ⁷⁶.

Inną strategią może być włączenie M2e do białka rdzenia (HBc) wirusa HBV. Tak otrzymane białko tworzy sferyczne cząstki wirusopodobne, co zwiększa immunogenność M2e poprzez multimeryczną prezentację antygeny. W jednym z badań włączono cztery domeny M2e wirusa grypy typu A do białka HBc. Tak otrzymane cząsteczki zastosowane jako szczepionka skutecznie chroniły większość myszy przed infekcją wirusami H1N1 A/Puerto Rico/8/34 i A/Aichi/2/68^{77,78}.

Kolejną możliwością otrzymania skutecznej szczepionki nakierowanej na M2e jest taka modyfikacja wirusa grypy by antygen ten był skutecznie prezentowany. Mezhenskaya i wsp. stworzyli dwa modyfikowane genetycznie atenuowane wirusy A H3N2. W wirusach tych domenę M2e powtórzoną cztery razy włączono do białka NS1 lub hemagglutyniny. Wirusy te zostały wykorzystane do zaszczepienia fretok i skuteczniej chroniły te zwierzęta przed objawami infekcji wirusem A H1N1, niż szczepionka zawierająca dzikiego typu wirus H3N2. Ponadto, surowica zaszczepionych fretok została wykorzystana do zapewnienia biernej odporności myszom. Uodpornione myszy były chronione przed śmiertelnym przebiegiem infekcji wirusami posiadającymi M2e o sekwencji takiej jak w ludzkich wirusach⁷⁹.

Co za tym idzie, ektodomena M2 jest obiecującym antygenem, który może pozwolić na uzyskanie uniwersalnej szczepionki przeciw grypie. Konieczne są dalsze badania w celu ustalenia efektywności szczepionek skierowanych przeciwko niej u ludzi.

6. Szczepionki wywołujące odpowiedź T-komórkową

Odpowiedź T komórkowa ma oczywisty udział w odporności przeciwko wirusowi grypy. Rozwiązania pozwalające na uzyskanie silnej odpowiedzi komórkowej, takie jak szczepionki wektorowe przeciwko grypie, są nadal w fazie badań klinicznych. Mogłyby one jednak zapewnić szerszy zakres odporności, niż komercyjne szczepionki, gdyby były nakierowane na konserwowane epitopy białek wirusa grypy.

Jedną ze szczepionek wektorowych przeciwko wirusowi grypy, którą zastosowano w badaniu klinicznym jest MVA-NP+M1. Jest ona oparta na modyfikowanym wirusie krowianki Ankara (Modified Vaccinia Ankara, MVA) kodującym białko fuzyjne złożone z białek M1 i NP wirusa H1N1 A/Panama/2007/99⁸⁰. Wektor ten wywoływał silną odpowiedź komórkową, zdominowaną przez limfocyty CD8+ u zdrowych dorosłych, także

wobec grypy H5N1^{80,81}. Zapewniał on też pewien stopień odporności przed eksperymentalnym zakażeniem wirusem grypy⁸².

Innym przykładem szczepionki wektorowej przeciw grypie jest ChAdOx1 NP+M1. Oparta jest ona na szympansim adenowirusie Y25 (identyczny z tym obecnym w jednej z dopuszczonych do obrotu szczepionek przeciw COVID-19), który wykazuje ekspresję tego samego białka fuzyjnego opartego na sekwencji wirusa H1N1 A/Panama/2007/99, co MVA-NP+M1^{83,84}. Wektor ten wywoływał silną odpowiedź komórkową u ludzi, którą można było zwiększyć stosując wektor MVA-NP+M1 jako dawkę przypominającą. Schemat ten zapewniał silniejszą odpowiedź komórkową, niż wykorzystanie dwóch dawek tego samego wektora^{85,86}.

7. Podsumowanie

Wymienione strategie immunizacji przeciwko wirusowi grypy pozwoliłyby na otrzymanie skuteczniejszych szczepionek i być może pozwoliłyby częściowo zrezygnować z konieczności zmiany składu szczepionki co roku w związku ze zmiennością genetyczną immunodominującej główki hemaglutyniny.

Co więcej, nie istnieje powód dla którego wymienione w rozdziale strategie nie mogą być połączone. Przykładowo, Freyn i wsp. otrzymali cztery modyfikowane RNA kodujące następujące białka wirusa A H1N1: hemaglutyninę pozbawioną główki, neuraminidazę, M2 oraz NP. Zastosowali je do zaszczepienia myszy. Już jedna dawka takiej szczepionki zapewniła zwierzętom silną odporność przeciwko słabo spokrewnionym wirusom grypy A H1N1, H5N8 i H9N2⁶⁵.

Niemniej, w celu wdrożenia szczepionek przeciw grypie nowej generacji konieczne są dalsze badania. Opisane tutaj rozwiązania były badane na zwierzętach lub co najwyżej niewielkich grupach pacjentów. Konieczne będzie określenie realnej skuteczności szczepionek poliwalentnych opartych o nowe rozwiązania, skierowanych przeciwko grypie A H1N1 i H3N2 oraz grypie typu B, a także ich długoterminowego bezpieczeństwa. Niezbędne będzie także określenie, jak bardzo zmienna jest skuteczność takich szczepień w kolejnych latach, co mimo wszystko może wymusić zmiany w składzie „uniwersalnych” szczepionek.

Z wymienionych w niniejszym rozdziale rozwiązań hemaglutyniny o konsensualnych sekwencjach nie wydają się optymalne, gdyż zakres odpowiedzi, który zapewniały był zawsze ograniczony. Niemniej, jest to rozwiązanie, które można zastosować w szczepionkach nie różniących się znacznie

składem od tych dopuszczonych do obrotu. Zastosowanie łądygi hemaglutyniny, neuraminidazy i M2e jako kluczowych immunogenów wydaje się zapewniać znacznie szerszy zakres odpowiedzi, ale będzie wymagać utworzenia zupełnie nowych szczepionek.

Referencje

1. Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, Peiris M, Kedzierska K, Doherty PC, Palese P, Shaw ML, Treanor J, Webster RG, García-Sastre A. Influenza. *Nature Reviews Disease Primers* [Internet]. 2018;4(1):3. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>
2. Steel J, Lowen AC. Influenza A Virus Reassortment BT - Influenza Pathogenesis and Control - Volume I. In: Compans RW, Oldstone MBA, editors. Cham: Springer International Publishing; 2014. p. 377–401. Available from: https://doi.org/10.1007/82_2014_395
3. Influenza (Seasonal) [Internet]. [cited 2022 May 8]. Available from: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))
4. Lindstrom SE, Cox NJ, Klimov A. Evolutionary analysis of human H2N2 and early H3N2 influenza viruses: evidence for genetic divergence and multiple reassortment among H2N2 and/or H3N2 viruses. *International Congress Series* [Internet]. 2004;1263:184–90. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531513104001657>
5. Goneau LW, Mehta K, Wong J, L'Huillier AG, Gubbay JB. Zoonotic Influenza and Human Health—Part 1: Virology and Epidemiology of Zoonotic Influenzas. *Current Infectious Disease Reports* [Internet]. 2018;20(10):37. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11908-018-0642-9>
6. K. VR, Jayanthi J, H. MI, Mahesh M, Pauline L, Martin L, Julia L, Cui L, E. OLL, Kai LH, C. KES, Dhanasekaran V, D. SGJ, F. SYC. Divergent evolutionary trajectories of influenza B viruses underlie their contemporaneous epidemic activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2020 Jan 7;117(1):619–28. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1916585116>

7. Global Influenza Programme [Internet]. [cited 2022 May 8]. Available from: <https://www.who.int/teams/global-influenza-programme/vaccines>
8. Hirve S, Newman LP, Paget J, Azziz-Baumgartner E, Fitzner J, Bhat N, Vandemaele K, Zhang W. Influenza Seasonality in the Tropics and Subtropics – When to Vaccinate? PLOS ONE [Internet]. 2016 Apr 27;11(4):e0153003. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153003>
9. McAuley JL, Gilbertson BP, Trifkovic S, Brown LE, McKimm-Breschkin JL. Influenza Virus Neuraminidase Structure and Functions [Internet]. Vol. 10, *Frontiers in Microbiology*. 2019. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00039>
10. Stegmann T. Membrane Fusion Mechanisms: The Influenza Hemagglutinin Paradigm and its Implications for Intracellular Fusion. *Traffic* [Internet]. 2000 Aug 1;1(8):598–604. Available from: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0854.2000.010803.x>
11. Peukes J, Xiong X, Erlendsson S, Qu K, Wan W, Calder LJ, Schraidt O, Kummer S, Freund SM v, Kräusslich HG, Briggs JAG. The native structure of the assembled matrix protein 1 of influenza A virus. *Nature* [Internet]. 2020;587(7834):495–8. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2696-8>
12. Manzoor R, Igarashi M, Takada A. Influenza A Virus M2 Protein: Roles from Ingress to Egress. Vol. 18, *International Journal of Molecular Sciences*. 2017.
13. Eisfeld AJ, Neumann G, Kawaoka Y. At the centre: influenza A virus ribonucleoproteins. *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. 2015;13(1):28–41. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3367>
14. Krug RM. Functions of the influenza A virus NS1 protein in antiviral defense. *Current Opinion in Virology* [Internet]. 2015;12:1–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625715000085>
15. de Vlugt C, Sikora D, Pelchat M. Insight into Influenza: A Virus Cap-Snatching. Vol. 10, *Viruses*. 2018.

16. Wilkinson TM, Li CKF, Chui CSC, Huang AKY, Perkins M, Lieberman JC, Lambkin-Williams R, Gilbert A, Oxford J, Nicholas B, Staples KJ, Dong T, Douek DC, McMichael AJ, Xu XN. Preexisting influenza-specific CD4⁺ T cells correlate with disease protection against influenza challenge in humans. *Nature Medicine* [Internet]. 2012;18(2):274–80. Available from: <https://doi.org/10.1038/nm.2612>
17. McKinstry KK, Strutt TM, Kuang Y, Brown DM, Sell S, Dutton RW, Swain SL. Memory CD4⁺ T cells protect against influenza through multiple synergizing mechanisms. *The Journal of Clinical Investigation* [Internet]. 2012 Aug 1;122(8):2847–56. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI63689>
18. Shie JJ, Fang JM. Development of effective anti-influenza drugs: congeners and conjugates – a review. *Journal of Biomedical Science* [Internet]. 2019;26(1):84. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0567-0>
19. How Influenza (Flu) Vaccines Are Made | CDC [Internet]. [cited 2022 May 8]. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/prevent/how-fluvaccine-made.htm>
20. Álvarez Aldeán J, Salamanca I, Ocaña D, Barranco JL, Walter S. Effectiveness of cell culture-based influenza vaccines compared with egg-based vaccines: What does the literature say? *Revista Española de Quimioterapia*. 2022 Mar 18;
21. Ng SK. Current cell-based influenza vaccine production technology as pandemic contingency. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* [Internet]. 2012 Feb 1;8(2):267–71. Available from: <https://doi.org/10.4161/hv.18336>
22. Arunachalam AB, Post P, Rudin D. Unique features of a recombinant haemagglutinin influenza vaccine that influence vaccine performance. *npj Vaccines* [Internet]. 2021;6(1):144. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41541-021-00403-7>
23. Dunkle LM, Izikson R, Patriarca P, Goldenthal KL, Muse D, Calhahan J, Cox MMJ. Efficacy of Recombinant Influenza Vaccine in Adults 50 Years of Age or Older. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2017 Jun 21;376(25):2427–36. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1608862>

24. Tregoning JS, Russell RF, Kinnear E. Adjuvanted influenza vaccines. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* [Internet]. 2018 Mar 4;14(3):550–64. Available from: <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1415684>
25. Live attenuated influenza vaccine for children. *Drug and Therapeutics Bulletin* [Internet]. 2017 Oct 1;55(10):114 LP – 117. Available from: <http://dtb.bmj.com/content/55/10/114.abstract>
26. Bandell AR, Simões E. Live attenuated influenza vaccine tetravalent: a clinical review. *Expert Review of Vaccines* [Internet]. 2015 Jul 3;14(7):963–73. Available from: <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.1034695>
27. Ambrose CS, Levin MJ, Belshe RB. The relative efficacy of trivalent live attenuated and inactivated influenza vaccines in children and adults. *Influenza and Other Respiratory Viruses* [Internet]. 2011 Mar 1;5(2):67–75. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1750-2659.2010.00183.x>
28. McMichael AJ, Gotch FM, Noble GR, Beare PAS. Cytotoxic T-Cell Immunity to Influenza. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 1983 Jul 7;309(1):13–7. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJM198307073090103>
29. Topham DJ, Tripp RA, Doherty PC. CD8+ T cells clear influenza virus by perforin or Fas-dependent processes. *The Journal of Immunology* [Internet]. 1997 Dec 1;159(11):5197 LP – 5200. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/159/11/5197.abstract>
30. Doherty PC, Turner SJ, Webby RG, Thomas PG. Influenza and the challenge for immunology. *Nature Immunology* [Internet]. 2006;7(5):449–55. Available from: <https://doi.org/10.1038/ni1343>
31. Gerhard W, Yewdell J, Frankel ME, Webster R. Antigenic structure of influenza virus haemagglutinin defined by hybridoma antibodies. *Nature* [Internet]. 1981;290(5808):713–7. Available from: <https://doi.org/10.1038/290713a0>
32. Wrammert J, Smith K, Miller J, Langley WA, Kokko K, Larsen C, Zheng NY, Mays I, Garman L, Helms C, James J, Air GM, Capra JD, Ahmed R, Wilson PC. Rapid cloning of high-affinity human monoclonal antibodies against influenza virus. *Nature* [Internet].

- 2008;453(7195):667–71. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature06890>
33. Angeletti D, Gibbs JS, Angel M, Kosik I, Hickman HD, Frank GM, Das SR, Wheatley AK, Prabhakaran M, Leggat DJ, McDermott AB, Yewdell JW. Defining B cell immunodominance to viruses. *Nature Immunology* [Internet]. 2017;18(4):456–63. Available from: <https://doi.org/10.1038/ni.3680>
34. Krammer F, Palese P. Influenza virus hemagglutinin stalk-based antibodies and vaccines. *Current Opinion in Virology* [Internet]. 2013;3(5):521–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187962571300134X>
35. Wohlbold TJ, Podolsky KA, Chromikova V, Kirkpatrick E, Falconieri V, Meade P, Amanat F, Tan J, tenOever BR, Tan GS, Subramaniam S, Palese P, Krammer F. Broadly protective murine monoclonal antibodies against influenza B virus target highly conserved neuraminidase epitopes. *Nature Microbiology* [Internet]. 2017;2(10):1415–24. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0011-8>
36. Hongquan W, Jin G, Kemin X, Hongjun C, K. CL, H. RK, D. EJ, Kevin Y, Lei Z, Mohsen R, Jianqiang Y, Ishrat S, Xiu-Feng W, Xiufan L, R. PD, K. TJ, C. EM. Molecular Basis for Broad Neuraminidase Immunity: Conserved Epitopes in Seasonal and Pandemic H1N1 as Well as H5N1 Influenza Viruses. *Journal of Virology* [Internet]. 2013 Aug 15;87(16):9290–300. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.01203-13>
37. Neiryneck S, Deroo T, Saelens X, Vanlandschoot P, Jou WM, Fiers W. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nature Medicine* [Internet]. 1999;5(10):1157–63. Available from: <https://doi.org/10.1038/13484>
38. Ekiert DC, Wilson IA. Broadly neutralizing antibodies against influenza virus and prospects for universal therapies. *Current Opinion in Virology* [Internet]. 2012;2(2):134–41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1879625712000326>
39. Gao R, Sheng Z, Sreenivasan CC, Wang D, Li F. Influenza A Virus Antibodies with Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Function. Vol. 12, *Viruses*. 2020.

40. C. LA, John S, Samira M, Elena C, Adolfo GS, Peter P. Blocking Interhost Transmission of Influenza Virus by Vaccination in the Guinea Pig Model. *Journal of Virology* [Internet]. 2009 Apr 1;83(7):2803–18. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.02424-08>
41. Henry C, Palm AKE, Krammer F, Wilson PC. From Original Antigenic Sin to the Universal Influenza Virus Vaccine. *Trends in Immunology* [Internet]. 2018;39(1):70–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471490617301643>
42. Auladell M, Phuong HVM, Mai LTQ, Tseng YY, Carolan L, Wilks S, Thai PQ, Price D, Duong NT, Hang NLK, Thanh LT, Thuong NTH, Huong TTK, Diep NTN, Bich VTN, Khvorov A, Hensen L, Duong TN, Kedzierska K, Anh DD, Wertheim H, Boyd SD, Good-Jacobson KL, Smith D, Barr I, Sullivan S, van Doorn HR, Fox A. Influenza virus infection history shapes antibody responses to influenza vaccination. *Nature Medicine* [Internet]. 2022;28(2):363–72. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01690-w>
43. Giles BM, Ross TM. A computationally optimized broadly reactive antigen (COBRA) based H5N1 VLP vaccine elicits broadly reactive antibodies in mice and ferrets. *Vaccine* [Internet]. 2011;29(16):3043–54. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X11001721>
44. M. GB, J. BS, R. DD, A. WC, M. RT. Antibody Breadth and Protective Efficacy Are Increased by Vaccination with Computationally Optimized Hemagglutinin but Not with Polyvalent Hemagglutinin-Based H5N1 Virus-Like Particle Vaccines. *Clinical and Vaccine Immunology* [Internet]. 2012 Feb 1;19(2):128–39. Available from: <https://doi.org/10.1128/CVI.05533-11>
45. Giles BM, Crevar CJ, Carter DM, Bissel SJ, Schultz-Cherry S, Wiley CA, Ross TM. A Computationally Optimized Hemagglutinin Virus-Like Particle Vaccine Elicits Broadly Reactive Antibodies that Protect Nonhuman Primates from H5N1 Infection. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2012 May 15;205(10):1562–70. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis232>
46. M. CD, A. DC, C. LB, J. CC, Timothy A, Raymond O, F. AS, Tod S, Guadalupe CG, U. VT, Mark P, Harold K, M. RT, S. LD. Design and Characterization of a Computationally Optimized

- Broadly Reactive Hemagglutinin Vaccine for H1N1 Influenza Viruses. *Journal of Virology* [Internet]. 2022 May 14;90(9):4720–34. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.03152-15>
47. Ping X, Hu W, Xiong R, Zhang X, Teng Z, Ding M, Li L, Chang C, Xu K. Generation of a broadly reactive influenza H1 antigen using a consensus HA sequence. *Vaccine* [Internet]. 2018;36(32, Part B):4837–45. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X18308892>
48. Wei CJ, Crank MC, Shiver J, Graham BS, Mascola JR, Nabel GJ. Next-generation influenza vaccines: opportunities and challenges. *Nature Reviews Drug Discovery* [Internet]. 2020;19(4):239–52. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0056-x>
49. Chih-Jen W, C. BJ, M. MP, Wing-Pui K, B. PM, Ling X, Hanne A, Srinivas R, M. TT, Zhi-Yong Y, J. NG. Induction of Broadly Neutralizing H1N1 Influenza Antibodies by Vaccination. *Science* (1979) [Internet]. 2010 Aug 27;329(5995):1060–4. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.1192517>
50. Ledgerwood JE, Wei CJ, Hu Z, Gordon IJ, Enama ME, Hendel CS, McTamney PM, Pearce MB, Yassine HM, Boyington JC, Bailer R, Tumpey TM, Koup RA, Mascola JR, Nabel GJ, Graham BS. DNA priming and influenza vaccine immunogenicity: two phase 1 open label randomised clinical trials. *The Lancet Infectious Diseases* [Internet]. 2011;11(12):916–24. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309911702407>
51. H. EA, Florian K, Gui-Mei L, S. MM, Christopher C, Jens W, Y. CC, W. DC, Megan M, Rivka E, Srilatha E, Paul S, F. AS, C. WP, Adolfo GS, J. MM, K. MA, Peter P, Rafi A. Induction of broadly cross-reactive antibody responses to the influenza HA stem region following H5N1 vaccination in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2014 Sep 9;111(36):13133–8. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1414070111>
52. Kanekiyo M, Wei CJ, Yassine HM, McTamney PM, Boyington JC, Whittle JRR, Rao SS, Kong WP, Wang L, Nabel GJ. Self-assembling influenza nanoparticle vaccines elicit broadly neutralizing H1N1 antibodies. *Nature* [Internet]. 2013;499(7456):102–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/nature12202>

53. Raffael N, John WT, Ariana H, Rong H, Haakon S, Peter P, J. CR, Florian K, S. LD. Induction of Broadly Reactive Anti-Hemagglutinin Stalk Antibodies by an H5N1 Vaccine in Humans. *Journal of Virology* [Internet]. 2014 Nov 15;88(22):13260–8. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.02133-14>
54. Khurana S, Coyle EM, Manischewitz J, King LR, Gao J, Germain RN, Schwartzberg PL, Tsang JS, Golding H, Biancotto A, Candia J, Chen J, Cheung F, Dickler H, Kotliarov Y, Perl S, Shi R, Stagliano KER, Young NS, Zhou H, Consortium and the CHI. AS03-adjuvanted H5N1 vaccine promotes antibody diversity and affinity maturation, NAI titers, cross-clade H5N1 neutralization, but not H1N1 cross-subtype neutralization. *npj Vaccines* [Internet]. 2018;3(1):40. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41541-018-0076-2>
55. Florian K, Åsne JL, Irina M, Ariana H, Haakon S, Maria Z, J. CR, A. PS. An H7N1 Influenza Virus Vaccine Induces Broadly Reactive Antibody Responses against H7N9 in Humans. *Clinical and Vaccine Immunology* [Internet]. 2014 Aug 1;21(8):1153–63. Available from: <https://doi.org/10.1128/CVI.00272-14>
56. Natalie P, Rong H, Florian K, T. WT, Jad M, Dirk E, S. TG, C. KJ, Thomas M, R. SC, David B, Jens W, B. BR, Adolfo GS, Peter P. Hemagglutinin stalk antibodies elicited by the 2009 pandemic influenza virus as a mechanism for the extinction of seasonal H1N1 viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2012 Feb 14;109(7):2573–8. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1200039109>
57. Gui-Mei L, Christopher C, Jens W, Megan M, F. AS, Nai-Ying Z, Jane-Hwei L, Min H, Xinyan Q, Srilatha E, Mark M, R. DS, W. YJ, K. MA, C. WP, Rafi A. Pandemic H1N1 influenza vaccine induces a recall response in humans that favors broadly cross-reactive memory B cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2012 Jun 5;109(23):9047–52. Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1118979109>
58. Yassine HM, Boyington JC, McTamney PM, Wei CJ, Kanekiyo M, Kong WP, Gallagher JR, Wang L, Zhang Y, Joyce MG, Lingwood D, Moin SM, Andersen H, Okuno Y, Rao SS, Harris AK, Kwong PD, Mascola JR, Nabel GJ, Graham BS. Hemagglutinin-stem

- nanoparticles generate heterosubtypic influenza protection. *Nature Medicine* [Internet]. 2015;21(9):1065–70. Available from: <https://doi.org/10.1038/nm.3927>
59. S. CK, M. MS, M. YH, Alberto C, Masaru K, Seyhan BB, I. MS, Yaroslav T, K. WA, A. SC, A. GR, Wei S, Lingshu W, Yi Z, F. AS, Gordon JM, C. CM, C. DD, B. MA, R. MJ, S. GB, C. BJ, Kanta S. Design of Nanoparticulate Group 2 Influenza Virus Hemagglutinin Stem Antigens That Activate Unmutated Ancestor B Cell Receptors of Broadly Neutralizing Antibody Lineages. *mBio* [Internet]. 2022 May 15;10(1):e02810-18. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.02810-18>
60. Florian K, Natalie P, Rong H, Irina M, Peter P. Chimeric Hemagglutinin Influenza Virus Vaccine Constructs Elicit Broadly Protective Stalk-Specific Antibodies. *Journal of Virology* [Internet]. 2013 Jun 15;87(12):6542–50. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.00641-13>
61. I. M, F. K, R. H, S. HN, S. TG, A. AS, A. RJ, C. WP, A. AR, A. GS, P. P. Hemagglutinin Stalk-Based Universal Vaccine Constructs Protect against Group 2 Influenza A Viruses. *Journal of Virology* [Internet]. 2013 Oct 1;87(19):10435–46. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.01715-13>
62. Florian K, Irina M, Rong H, Alexander F, Ariana H, Vadim T, Dexiang C, Peter P. H3 Stalk-Based Chimeric Hemagglutinin Influenza Virus Constructs Protect Mice from H7N9 Challenge. *Journal of Virology* [Internet]. 2014 Feb 15;88(4):2340–3. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.03183-13>
63. Bernstein DI, Gupta J, Naficy A, Nachbagauer R, Berlanda-Scorza F, Feser J, Wilson PC, Solórzano A, van der Wielen M, Walter EB, Albrecht RA, Buschle KN, Chen Y qing, Claeys C, Dickey M, Dugan HL, Ermler ME, Freeman D, Gao M, Gast C, Guthmiller JJ, Hai R, Henry C, Lan LYL, McNeal M, Palm AKE, Shaw DG, Stamper CT, Sun W, Sutton V, Tepora ME, Wahid R, Wenzel H, Wohlbold TJ, Innis BL, García-Sastre A, Palese P, Krammer F. Immunogenicity of chimeric haemagglutinin-based, universal influenza virus vaccine candidates: interim results of a randomised, placebo-controlled, phase 1 clinical trial. *The Lancet Infectious Diseases* [Internet].

- 2020;20(1):80–91. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309919303937>
64. Nachbagauer R, Feser J, Naficy A, Bernstein DI, Guptill J, Walter EB, Berlanda-Scorza F, Stadlbauer D, Wilson PC, Aydillo T, Behzadi MA, Bhavsar D, Bliss C, Capuano C, Carreño JM, Chromikova V, Claeys C, Coughlan L, Freyn AW, Gast C, Javier A, Jiang K, Mariottini C, McMahon M, McNeal M, Solórzano A, Strohmeier S, Sun W, van der Wielen M, Innis BL, García-Sastre A, Palese P, Krammer F. A chimeric hemagglutinin-based universal influenza virus vaccine approach induces broad and long-lasting immunity in a randomized, placebo-controlled phase I trial. *Nature Medicine* [Internet]. 2021;27(1):106–14. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1118-7>
65. Freyn AW, Ramos da Silva J, Rosado VC, Bliss CM, Pine M, Mui BL, Tam YK, Madden TD, de Souza Ferreira LC, Weissman D, Krammer F, Coughlan L, Palese P, Pardi N, Nachbagauer R. A Multi-Targeting, Nucleoside-Modified mRNA Influenza Virus Vaccine Provides Broad Protection in Mice. *Molecular Therapy* [Internet]. 2020;28(7):1569–84. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1525001620301994>
66. Johansson BE, Cox MMJ. Influenza viral neuraminidase: the forgotten antigen. *Expert Review of Vaccines* [Internet]. 2011 Dec 1;10(12):1683–95. Available from: <https://doi.org/10.1586/erv.11.130>
67. J. MM, A. SP, Alison H, Lindsay C, Susan R, Rani A, Tyler B, Sarah F, Kyle R, H. PJ, T. DR, K. TJ, Anne M, James C, Daniel H. Evaluation of Antihemagglutinin and Antineuraminidase Antibodies as Correlates of Protection in an Influenza A/H1N1 Virus Healthy Human Challenge Model. *mBio* [Internet]. 2022 May 15;7(2):e00417-16. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.00417-16>
68. Monto AS, Petrie JG, Cross RT, Johnson E, Liu M, Zhong W, Levine M, Katz JM, Ohmit SE. Antibody to Influenza Virus Neuraminidase: An Independent Correlate of Protection. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2015 Oct 15;212(8):1191–9. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv195>

69. Couch RB, Atmar RL, Franco LM, Quarles JM, Wells J, Arden N, Niño D, Belmont JW. Antibody Correlates and Predictors of Immunity to Naturally Occurring Influenza in Humans and the Importance of Antibody to the Neuraminidase. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2013 Mar 15;207(6):974–81. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jis935>
70. Job ER, Ysenbaert T, Smet A, Christopoulou I, Strugnell T, Oloo EO, Oomen RP, Kleanthous H, Vogel TU, Saelens X. Broadened immunity against influenza by vaccination with computationally designed influenza virus N1 neuraminidase constructs. *npj Vaccines* [Internet]. 2018;3(1):55. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41541-018-0093-1>
71. L. SA, Anne-Gaelle BB, F. SS, M. RT, Kanta S. Universal Influenza Virus Neuraminidase Vaccine Elicits Protective Immune Responses against Human Seasonal and Pre-pandemic Strains. *Journal of Virology* [Internet]. 2022 May 15;95(17):e00759-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/JVI.00759-21>
72. Shirin S, Fatima A, Xueyong Z, Meagan M, E. DM, F. PM, M. NK, A. WI, Florian K, Stacey SC. A Novel Recombinant Influenza Virus Neuraminidase Vaccine Candidate Stabilized by a Measles Virus Phosphoprotein Tetramerization Domain Provides Robust Protection from Virus Challenge in the Mouse Model. *mBio* [Internet]. 2022 May 15;12(6):e02241-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.02241-21>
73. Ramos EL, Mitcham JL, Koller TD, Bonavia A, Usner DW, Balaratnam G, Fredlund P, Swiderek KM. Efficacy and Safety of Treatment With an Anti-M2e Monoclonal Antibody in Experimental Human Influenza. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2015 Apr 1;211(7):1038–44. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu539>
74. Turley CB, Rupp RE, Johnson C, Taylor DN, Wolfson J, Tussey L, Kavita U, Stanberry L, Shaw A. Safety and immunogenicity of a recombinant M2e–flagellin influenza vaccine (STF2.4xM2e) in healthy adults. *Vaccine* [Internet]. 2011;29(32):5145–52. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X11007614>

75. Huleatt JW, Nakaar V, Desai P, Huang Y, Hewitt D, Jacobs A, Tang J, McDonald W, Song L, Evans RK, Umlauf S, Tussey L, Powell TJ. Potent immunogenicity and efficacy of a universal influenza vaccine candidate comprising a recombinant fusion protein linking influenza M2e to the TLR5 ligand flagellin. *Vaccine* [Internet]. 2008;26(2):201–14. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X0701256X>
76. Yao Y, Wang H, Chen J, Shao Z, He B, Chen J, Lan J, Chen Q, Chen Z. Protection against homo and hetero-subtypic influenza A virus by optimized M2e DNA vaccine. *Emerging Microbes & Infections* [Internet]. 2019 Jan 1;8(1):45–54. Available from: <https://doi.org/10.1080/22221751.2018.1558962>
77. Tsybalova LM, Stepanova LA, Kuprianov V v, Blokhina EA, Potapchuk M v, Korotkov A v, Gorshkov AN, Kasyanenko MA, Ravin N v, Kiselev OI. Development of a candidate influenza vaccine based on virus-like particles displaying influenza M2e peptide into the immunodominant region of hepatitis B core antigen: Broad protective efficacy of particles carrying four copies of M2e. *Vaccine* [Internet]. 2015;33(29):3398–406. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X15005496>
78. Ravin N v, Blokhina EA, Kuprianov V v, Stepanova LA, Shaldjan AA, Kovaleva AA, Tsybalova LM, Skryabin KG. Development of a candidate influenza vaccine based on virus-like particles displaying influenza M2e peptide into the immunodominant loop region of hepatitis B core antigen: Insertion of multiple copies of M2e increases immunogenicity and protective effici. *Vaccine* [Internet]. 2015;33(29):3392–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X15005423>
79. Mezhenkaya D, Isakova-Sivak I, Matyushenko V, Donina S, Reksin A, Sivak K, Yakovlev K, Katelnikova A, Kryshen K, Makarov V, Rudenko L. Universal Live-Attenuated Influenza Vaccine Candidates Expressing Multiple M2e Epitopes Protect Ferrets against a High-Dose Heterologous Virus Challenge. Vol. 13, *Viruses*. 2021.
80. Berthoud TK, Hamill M, Lillie PJ, Hwenda L, Collins KA, Ewer KJ, Milicic A, Poyntz HC, Lambe T, Fletcher HA, Hill AVS, Gilbert SC. Potent CD8+ T-Cell Immunogenicity in Humans of a Novel

- Heterosubtypic Influenza A Vaccine, MVA-NP+M1. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2011 Jan 1;52(1):1–7. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciq015>
81. Antrobus RD, Lillie PJ, Berthoud TK, Spencer AJ, McLaren JE, Laddell K, Lambe T, Milicic A, Price DA, Hill AVS, Gilbert SC. A T Cell-Inducing Influenza Vaccine for the Elderly: Safety and Immunogenicity of MVA-NP+M1 in Adults Aged over 50 Years. *PLOS ONE* [Internet]. 2012 Oct 31;7(10):e48322. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048322>
82. Lillie PJ, Berthoud TK, Powell TJ, Lambe T, Mullarkey C, Spencer AJ, Hamill M, Peng Y, Blais ME, Duncan CJA, Sheehy SH, Have-lock T, Faust SN, Williams RL, Gilbert A, Oxford J, Dong T, Hill AVS, Gilbert SC. Preliminary Assessment of the Efficacy of a T-Cell-Based Influenza Vaccine, MVA-NP+M1, in Humans. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2012 Jul 1;55(1):19–25. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/cis327>
83. Dicks MDJ, Spencer AJ, Edwards NJ, Wadell G, Bojang K, Gilbert SC, Hill AVS, Cottingham MG. A novel chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: Improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity. *PLoS ONE*. 2012;7(7).
84. Assessment report COVID-19 Vaccine AstraZeneca [Internet]. Amsterdam; 2021. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca>
85. Coughlan L, Sridhar S, Payne R, Edmans M, Milicic A, Venkatraman N, Lugonja B, Clifton L, Qi C, Folegatti PM, Lawrie AM, Roberts R, de Graaf H, Sukhtankar P, Faust SN, Lewis DJM, Lambe T, Hill AVS, Gilbert SC. Heterologous Two-Dose Vaccination with Simian Adenovirus and Poxvirus Vectors Elicits Long-Lasting Cellular Immunity to Influenza Virus A in Healthy Adults. *EBioMedicine* [Internet]. 2018;29:146–54. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352396418300653>

86. Antrobus RD, Coughlan L, Berthoud TK, Dicks MD, Hill AVS, Lambe T, Gilbert SC. Clinical Assessment of a Novel Recombinant Simian Adenovirus ChAdOx1 as a Vectored Vaccine Expressing Conserved Influenza A Antigens. *Molecular Therapy* [Internet]. 2014;22(3):668–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S152500161631190X>

PRZYKŁADY OBIECUJĄCYCH TECHNOLOGII, KTÓRE NIE ZNALAZŁY ZASTOSOWANIA W DOPUSZCZONYCH DO OBROTU SZCZEPIONKACH PRZECIW COVID-19

MARCIN GOŁAWSKI, JOANNA SOBOTA, GRZEGORZ MACHELSKI

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

Abstrakt:

COVID-19 – choroba, którą wywołuje wirus SARS-CoV-2 – nadal jest istotnym problemem dla zdrowia publicznego na świecie pomimo wprowadzenia szczepień. Obecnie stosowane szczepionki oparte są na modyfikowanym RNA (modRNA), wektorach adenowirusowych, rekombinowanych białkach, plazmidach DNA i inaktywowanym wirusie SARS-CoV-2. Znaczna większość podawana jest domięśniowo. Istnieją jednak rozwiązania, które pozwoliłyby otrzymać szczepionki przeciw COVID-19 o korzystniejszych właściwościach. W niniejszym rozdziale przedstawione zostaną rozwiązania takie jak samo-amplifikujące RNA (saRNA), szczepienia donosowe oraz oparte na nanocząstkach białkowych. saRNA wydaje się mieć istotny potencjał by być bardziej ekonomiczne w produkcji niż modRNA, choć konieczne mogą być dalsze ulepszenia tej technologii. Szczepienia donosowe wydają się mieć istotny potencjał by być bardziej skuteczne niż domięśniowe, a podaż donosowa wektorów adenowirusowych dokładnie takich jak w szczepionkach dopuszczonych do obrotu wydaje się możliwa. Nanocząstki białkowe pokryte białkiem Spike SARS-CoV-2 lub domeną wiążącą receptor mają potencjał by zapewnić szeroki zakres odporności przeciw wariantom SARS-CoV-2, a ponadto mogą być zakodowane w modyfikowanym RNA i w wektorach adenowirusowych. Co za tym idzie, wymienione rozwiązania są niezwykle obiecującymi technologiami, które mogły wpłynąć na skuteczność, akceptację i dostępność szczepionek przeciw COVID-19, jednak nie znalazły dotąd zastosowań praktycznych.

Słowa kluczowe: SARS-CoV-2, COVID-19, donosowe, RNA, nanocząstki

Abstract:

COVID-19 is a disease caused by SARS-CoV-2 virus, which continues to be a global public health problem despite the introduction of vaccines. Currently used vaccines are based on modified RNA (modRNA), adenoviral vectors, recombinant proteins, DNA plasmids and inactivated SARS-CoV-2 virus. A vast majority of them is administered intramuscularly. There are solutions which would allow for the creation of COVID-19 vaccines with a different profile. In this chapter, several solutions such as self-amplifying RNA (saRNA), intranasal vaccines and protein nanoparticle vaccines will be discussed. saRNA vaccines have a large potential to be more economical to produce than modRNA, but further improvements may be necessary for this technology. Intranasal vaccines have the capacity to be more potent than intramuscular

inoculations and intranasal administration of adenoviral vectors identical with those found in commercially available vaccines appears feasible. Protein nanoparticles covered with SARS-CoV-2 spike protein or its receptor binding domain may elicit a broad immunity against SARS-CoV-2 variants. Furthermore, it is possible to encode protein nanoparticles in modRNA or adenoviral vector. Therefore, the aforementioned solutions are very promising technologies, which could have influenced the efficacy, acceptance and availability of COVID-19 vaccines, but have found no practical applications so far.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, intranasal, RNA, nanoparticles

1. Wprowadzenie

COVID-19, czyli choroba wywołana przez koronawirusa SARS-CoV-2, nadal jest istotnym problemem dla zdrowia publicznego na całym świecie¹. Choć wprowadzenie szczepień istotnie wpłynęło na przebieg pandemii, nie doprowadziły one do szybkiego jej zakończenia. Czas trwania ochrony oraz skuteczność przeciwko wariantom SARS-CoV-2 okazały się niewystarczające, szczególnie w przypadku wariantu Omikron²⁻⁸.

Szybkie opracowanie szczepionek przeciw SARS-CoV-2 było możliwe dzięki licznym badaniom nad szczepionkami przeciw SARS-CoV i MER-S-CoV. Umożliwiły one zidentyfikowanie białka Spike (białka S), a przede wszystkim jego domeny wiążącej receptor (receptor-binding domain, RBD), jako najważniejszego immunogenu^{9,10}. Naświetliły też potencjalne ryzyko związane ze wzmocnieniem zależnym od przeciwciał (antibody-dependent enhancement, ADE)^{11,12} oraz wykorzystaniem białka nukleokapsydu (białka N) jako antygeny¹³⁻¹⁵.

Za najskuteczniejsze szczepionki przeciw COVID-19 można uznać szczepionki oparte na modyfikowanym RNA (modRNA)^{16,17}. Zasadą działania szczepionki RNA jest wnikanie substancji czynnej szczepionki do komórek pacjenta, a następnie translacja RNA, co prowadzi do produkcji immunogennego białka, a także prezentacji odpowiednich peptydów w obrębie białek układu zgodności tkankowej (HLA)¹⁸. Szczepionki te w celu penetrowania błon komórkowych wykorzystują nanocząstki lipidowe składające się z¹⁹⁻²¹:

- Lipidu kationowego, który odpowiada za powinowactwo nanocząstek do ujemnie naładowanych błon komórkowych i kwasów nukleinowych;
- Lipidu skoniugowanego z glikolem polietylenowym, który stabilizuje nanocząstki;
- Cholesterolu i fosfolipidu, które pełnią funkcje strukturalne.

RNA szczepionek otrzymywane jest poprzez transkrypcję z wykorzystaniem plazmidów bakteryjnych jako matrycy, oraz oczyszczonej, rekombinowanej transkryptazy fagowej^{20,21}. Modyfikacja RNA polega na wykorzystaniu 1-metylopseudourydyny w miejsce urydyny. Tak uzyskany wektor RNA częściowo unika rozpoznania poprzez wewnątrzkomórkowe sensory egzogennej RNA, a ponadto ulega efektywniejszej translacji^{22–24}. Niemniej, aktywacja sensora wirusowego RNA, jakim jest MDA5, wydaje się mieć istotne znaczenie dla odporności komórkowej wywoływanej przez szczepionki modRNA²⁵. Szczepionki modRNA charakteryzują się bardzo wysokim poziomem indukowanych przeciwciał oraz wysokim poziomem odpowiedzi komórkowej²⁶. Niestety, szczepionki oparte na modRNA okazały się obarczone istotnym działaniem niepożądanym, jakim jest wywoływanie zapalenia mięśnia sercowego przede wszystkim u młodych osób płci męskiej^{27–29}.

Obecnie stosowane szczepionki wektorowe przeciw COVID-19 wykorzystują wektory adenowirusowe oparte na ludzkich adenowirusach serotypu 5 i 26^{30–32} oraz szympansim adenowirusie Y25^{33,34}. Wykorzystanie serotypu 5 wiąże się z długą historią stosowania go w badaniach i wysoką immunogennością obserwowaną w badaniach przedklinicznych, jednak częsta serododatniość pacjentów ogranicza potencjalnie immunogenność w populacji ludzkiej³⁰. Z tego powodu część szczepionek wektorowych wykorzystuje pozostałe serotypy. Obecnie stosowane wektory adenowirusowe są niezdolne do replikacji w typowych komórkach ludzkich. Do ich produkcji wykorzystuje się komplementarne linie komórkowe wykazujące ekspresję kilku adenowirusowych genów niezbędnych do replikacji, które zostały usunięte z genomu wektora. Są to na przykład pochodne linii HEK293 albo PER.C6^{32,34}. Szczepionki adenowirusowe indukują dość stabilny poziom przeciwciał, który jest istotnie niższy niż poziom indukowany przez szczepionki modRNA³⁵. Bardzo poważnym działaniem niepożądanym szczepionek opartych na adenowirusach okazały się przypadki zakrzepicy powiązanej z małopłytkowością. Możliwe, że odpowiada za nie interakcja wektora adenowirusowego z czynnikiem płytkowym 4 (PF4), co prowadzi do powstawania autoprzeciwciał przeciwko temu czynnikowi³⁶.

Szczepionki inaktywowane zyskały popularność głównie poza krajami zachodnimi³⁷. Wirus SARS-CoV-2 może być efektywnie produkowany poprzez namnażanie w komórkach Vero. Ze względu na potencjalnie niepożądane efekty immunizacji białkiem nukleokapsydu, preferuje się metody inaktywacji, które nie prowadzą do rozpadu wirionów i odsłonięcia tego białka^{13–15}. Jest nią przede wszystkim inaktywacja za pomocą beta-propiolaktonu, która skierowana jest głównie w materiał genetyczny wirusa^{37–50}.

Wśród szczepionek rekombinowanych dominują dwie strategie immunizacji: wykorzystanie pełnego białka S lub jedynie fragmentu RBD w szczepionce podjednostkowej. Do ich produkcji wykorzystuje się komórki eukariotyczne (np. *Trichoplusia ni*), roślinę *Nicotiana benthamiana* albo drożdże *Pichia pastoris*. Białko S w niektórych szczepionkach stosowane jest jako komponent nanocząstek lub cząstek wirusopodobnych.^{51–56} Jedna ze stosowanych obecnie szczepionek rekombinowanych jest podawana w 3 dawkach, z których jedna jest donosowa⁵⁷. RBD może być poddana dimeryzacji. Ma to na celu osiągnięcie multimerycznej prezentacji epitopów w celu zwiększenia immunogenności poprzez aktywację większej ilości receptorów limfocytów B, a co za tym idzie zwiększenia pobudzania ich proliferacji i dojrzewania⁵⁸. W Rosji i Turkmenistanie stosowana była szczepionka zawierająca białko N skoniugowane z peptydami białka S, jednak jej skuteczność i racjonalność wyboru antygenów należy uznać za co najmniej wątpliwą^{59,60}.

Zarówno szczepionki inaktywowane, jak i rekombinowane wymagają często stosowania adjuwantu w celu osiągnięcia zadowalającej immunogenności. Te przeciw COVID-19 najczęściej zawierają związki glinu, a niektóre dodatkowo agonistów TLR9 lub TLR7/8^{49,54}. Dostępne są też szczepionki zawierające adjuwanty oparte na lipidach, w skład których wchodzić mogą też silnie immunostymulujące saponiny mydłodrzewa właściwego *Quillaja saponaria*^{55,56}. Jedną ze szczepionek dopuszczonych do obrotu w Iranie zawiera adjuwant oparty na polisacharydzie delta-inulinie⁵².

Inną strategią zwiększania immunogenności szczepionek rekombinowanych jest koniugacja z białkiem nośnikowym. Istnieje szczepionka składająca się z RBD skoniugowanej z toksoidem tężca⁶¹.

W Indiach dopuszczona została do obrotu szczepionka plazmidowa DNA przeciw COVID-19. Plazmid ten zawiera gen białka S, który podlega po wniesieniu do jądra komórki transkrypcji i następnie translacji. Szczepionka ta podawana jest śródskórnie, za pomocą systemu bezigłowego. W przeciwieństwie do szczepionek RNA nie wykorzystuje ona substancji zwiększających penetrację przez błonę komórkową. Zamiast tego opiera się ona na dość wysokiej dawce plazmidu DNA, zwiększonej immunogenności związanej z podaniem śródskórnym oraz większym ciśnieniu przy podaniu w porównaniu z typowym wstrzyknięciem z użyciem igły⁶².

Oprócz technologii, które znalazły zastosowanie w dopuszczonych do obrotu szczepionkach przeciw COVID-19, są pewne rozwiązania, których zastosowanie nie powiodło się. Przykładowo, niewystarczająco immunogenne okazały się szczepionki wektorowe oparte na wirusie odry oraz wirusie

pęcherzykowatego zapalenia jamy ustnej (vesicular stomatitis virus, VSV) ⁶³⁻⁶⁵. Są też doniesienia o tym, że rozwój i badania szczepionki zawierającej peptyd pochodzący z wirusa HIV w celu stabilizacji białka S został zarzucony ze względu na fałszywie dodatnie wyniki testów serologicznych w kierunku zakażenia HIV wśród uczestników badań ⁶⁶. Jak dotąd, niewystarczająco immunogenna okazała się też jedna szczepionka oparta na niemodyfikowanym RNA ⁶⁷.

Istnieje jednak wiele interesujących rozwiązań, które potencjalnie mogłyby posłużyć, lub też posłużyły w badaniach przedklinicznych i wczesnych badaniach klinicznych do uzyskania szczepionek przeciw COVID-19 o interesujących właściwościach, jak choćby zwiększona immunogenność, niższy koszt produkcji, odmienna droga podania albo skuteczniejsza ochrona przed wariantami wirusa.

Celem niniejszego rozdziału jest omówienie nowych rozwiązań w badaniach nad szczepionkami i wykazanie możliwości dalszego ulepszenia obecnie stosowanych szczepionek p. COVID-19. Te dostępne na rynku nie powstały bowiem w wyniku wieloletnich badań i udoskonaleń, a w wyniku oczywistego połączenia znanych już platform i wypróbowanych dla SARS-CoV i MERS-CoV podejść. By otrzymać szczepionki nowej generacji w przyszłości, także te przeciwko innym chorobom, niezbędna jest jednak pełna znajomość technik uzyskiwania szczepionek o wysokiej skuteczności, w tym także rozwiązań, które jeszcze nie są stosowane w szczepionkach dopuszczonych do obrotu.

2. Samoamplifikujące RNA

Obecnie stosowane szczepionki oparte na modRNA kodują jedynie białko S wirusa SARS-CoV-2. Strategią, która potencjalnie pozwala osiągnąć wyższą immunogenność przy zastosowaniu niższej dawki RNA, jest jednak zastosowanie samoamplifikującego RNA (saRNA) ⁶⁸.

saRNA to niemodyfikowane RNA, które oparte jest o genom wirusów RNA z nicią kodującą, w którym części kodujące białka strukturalne wirusa zostały wymienione na geny kodujące białka mające być celem odpowiedzi immunologicznej. W efekcie w wyniku translacji saRNA powstają, oprócz białek immunogennych, także białka powielające saRNA, w efekcie czego do otrzymania takiej samej ilości immunogennego białka w organizmie pacjenta potrzeba mniejszej ilości RNA ⁶⁸.

saRNA będące przedmiotem obecnych badań najczęściej jest oparte na alfawirusach, przede wszystkim wirusie Wenezuelskiego końskiego zapalenia mózgu (Venezuelan equine encephalitis virus, VEEV), wirusie gorączki

Sindbis i wirusie gorączki lasu Semliki. Jako że saRNA nie koduje białek strukturalnych niezbędnych do pakowania go w zakaźne cząsteczki, nie jest ono patogenne mimo zdolności do namnażania wewnątrz komórki. Możliwe jest jednak dostarczenie tych białek *in trans* by uzyskać saRNA pakowane w wiriony zdolne do infekcji pojedynczej komórki, ale bez zdolności wytwarzania potomnych cząstek zakaźnych. saRNA oparte na alfawirusach ulega translacji po wnikięciu do komórki w wyniku czego powstają niestrukturalne białka NS1 - NS4. Białka te wytwarzają niekodującą nić na podstawie matrycy jaką jest nić kodująca. Nić niekodująca jest zaś matrycą do syntezy kolejnych nici kodujących oraz nici subgenomowych, które kodują białko patogenu, przeciwko któremu skierowana jest szczepionka (w wypadku alfawirusów nić subgenomowa koduje białka strukturalne) ^{68,69}.

Pollock i wsp. opublikowali wyniki badania klinicznego I fazy, w którym badano różne dawki szczepionki zawierającej saRNA opartej na wirusie VEEV i kodującej stabilizowane białko S SARS-CoV-2. saRNA było pakowane w kationowe nanocząstki lipidowe podobne do tych w jednej ze szczepionek dopuszczonych do obrotu. Choć szczepionka była immunogenna już w niskiej dawce 1 µg, to nawet w dawce 10 µg nie wszyscy uczestnicy ulegli serokonwersji. Ponadto miana przeciwciał neutralizujących były nieco niższe niż te występujące u ozdrowieńców. Dodatkowo dawka 10 µg nie okazała się bardziej immunogenna niż 5 µg ⁷⁰.

Można by więc wnioskować, że szczepionki oparte na saRNA wymagają dalszego rozwoju w celu zapewnienia wysokiej immunogenności. Istotnym problemem może być fakt, iż replikacja wirusów, a więc i saRNA na nich opartego, jest hamowana przez mechanizmy odporności wrodzonej. W wypadku alfawirusów pętla RNA (down-stream loop, DLP) we fragmencie kodującym białko kapsydu odpowiada za inicjację translacji nawet w wypadku aktywacji kinazy białkowej R (PKR) przez dwuniciowe RNA (dsRNA) i fosforylacji czynnika inicjującego translację eIF2α. Jako że pętla ta koduje część białka strukturalnego, nie jest obecna w większości badanych saRNA. Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie saRNA kodującego białko ograniczające aktywację PKR przez dsRNA i fosforylację eIF2α, dołączenie mRNA kodujących takie białka do saRNA w szczepionce, wykorzystanie inhibitorów odpowiedzi przeciwwirusowej czy saRNA zawierającego alfawirusową DLP ^{68,71,72}. Niemniej, istnieją pewne doniesienia o obiecujących wynikach badań klinicznych szczepionki przeciw COVID-19 opartej na saRNA jako szczepionki przypominającej ⁷³.

3. Szczepienia donosowe

Wszystkie dopuszczone obecnie szczepionki przeciw COVID-19 podawane są domięśniowo z wyjątkiem dwóch. Pierwsza z nich, oparta na DNA, stosowana jest jedynie w Indiach i podawana jest śródskórnie. Druga z nich, oparta na białku, podawana jest donosowo, ale tylko po wcześniejszych dwóch dawkach domięśniowych i stosowana jest w Iranie ⁵⁷. Alternatywne metody podania, czyli na przykład donosowa, uzyskały więc zdecydowanie mniejsze zainteresowanie. Szczepienia donosowe mogą mieć pewne zalety ^{74,75} to jest mogą wywoływać silniejszą odporność w błonach śluzowych, co skuteczniej zapobiega transmisji wirusa, niż odporność ogólnoustrojowa. Ponadto w oczywisty sposób pozwalają one unikać wykorzystywania igieł, które są potencjalnie niebezpieczne i zniechęcają pacjentów. Niestety metody oceny odpowiedzi w błonach śluzowych są mniej rozwinięte, metody podaży donosowej są słabiej ustandaryzowane, a temat adjuwantów dla szczepionek podawanych na błony śluzowe jest słabo zbadany ^{76,77}. W niniejszym podrozdziale zostaną omówione wybrane donosowe szczepionki przeciw SARS-CoV-2 zbadane na modelach zwierzęcych.

Szczepionki przeciw COVID-19 oparte na wektorach adenowirusowych są obecnie powszechnie stosowane. Ponieważ adenowirusy są także wirusami oddechowymi, nie dziwi możliwość podania tych wektorów donosowo. Skuteczność takiego rozwiązania potwierdzono na modelach zwierzęcych. Szczepionka oparta na szympansim adenowirusie 36 wykazującym ekspresję białka S była bardziej immunogenna i lepiej chroniła przed infekcją, w tym infekcją jamy nosowej, na modelu mysim i modelu chomika Syryjskiego, gdy była podawana donosowo zamiast domięśniowo ^{76,78,79}. Dość wysoki stopień ochrony u myszy przeciwko wariantowi B.1.351 utrzymywał się nawet przez 9 miesięcy ⁷⁹. Skuteczność jej przeciw infekcji SARS-CoV-2 udowodniono też na makakach ⁸⁰. Inny wektor adenowirusowy, oparty na ludzkim adenowirusie 5 i kodujący RBD skutecznie chronił przed infekcją transgeniczne myszy K18-hACE2 ⁸¹. Inny podawany donosowo wektor, również oparty na ludzkim adenowirusie 5, kodujący pełne białko S bez domeny transmembranowej chronił myszy przed infekcją, jednak słabiej niż po podaniu podskórnym ⁸². Niereplikujący wektor adenowirusowy kodujący dimeryczne białko RBD oparty na szympansim adenowirusie C7 skutecznie chronił przed infekcją na modelu mysim. Dimeryczna RBD była w tym wypadku bardziej immunogenna niż monomeryczna RBD lub pełne białko S ⁸³. Obecny w dopuszczonej do obrotu domięśniowej szczepionce wektor

ChAdOx1nCoV-19 oparty na szympansim adenowirusie Y25 i kodujący pełne białko S lepiej chronił chomiki przed infekcją SARS-CoV-2 po podaniu donosowym niż domięśniowym⁸⁴. Szczepienie donosowe było też skuteczne u makaków⁸⁴. Donosowa szczepionka oparta na ludzkim adenowirusie 26 i pełnym, stabilizowanym białku S również chroniła chomiki przed infekcją⁸⁵.

Oprócz adenowirusów istnieją też inne wektory, które mogą być zastosowane jako szczepionki donosowe. Pseudotypowane białkiem G wirusa VSV wektory lentiwirusowe kodujące białko S były immunogenne i skutecznie chroniły chomiki i myszy transgeniczne przed infekcją po podaniu dwóch dawek, z których jedna była donosowa⁸⁶. Dwudawkowy schemat szczepienia ze szczepieniem domięśniowym i donosowym zastosowali też Bošnjak i wsp., którzy badali modyfikowany wirus krowianki Ankara wykazujący ekspresję białka S. Tak podany wektor również chronił chomiki przed infekcją, a podanie drugiej lub obydwu dawek donosowo zapewniało silną odporność w błonach śluzowych u myszy⁸⁷. Donosowe szczepienie trzema dawkami stabilizowanego białka S z białkiem N, adjuwantem z flageliny *Escherichia coli* oraz cyklicznego adenozyonomonofosforanu-guanozyonomonofosforanu chroniło transgeniczne myszy przed śmiertelną infekcją wirusem SARS-CoV-2⁸⁸. Pęcherzyki błony zewnętrznej *Neisseria meningitidis* skoniugowane z białkiem S za pomocą peptydu wiążącego lipopolisacharyd mCramp były skuteczną szczepionką donosową u chomików⁸⁹. Ostatecznie szczepionka skoniugowana oparta na RBD i zmutowanej, nietoksycznej wersji toksoidu błonicy z monofosforylowanym lipidem A jako adjuwantem skutecznie chroniła myszy przed infekcją po podaniu donosowym, ale nie domięśniowym⁹⁰.

Można więc wywnioskować, że donosowe szczepionki przeciw COVID-19 są jak najbardziej możliwe do zastosowania. Duża ilość dostępnych rozwiązań sprawia, że choć szczepionki donosowe nie są zbyt powszechnie stosowane u ludzi wobec szerokiej gamy chorób, to jest duża szansa, iż któraś z wymienionych szczepionek lub też innych, które zostały zbadane na zwierzętach, okazałaby się także skuteczna u ludzi. W najlepszym możliwym wypadku, dopuszczone do obrotu szczepionki oparte na wektorach adenowirusowych mogłyby okazać się skuteczne po podaniu donosowym i pozbawione ryzyka zakrzepicy i małopłytkowości. Wymaga to jednak dalszych badań klinicznych.

4. Częsteczki wirusopodobne z rdzeniem białkowym

Wśród dostępnych na rynku szczepionek dostępne są dwie szczepionki nanocząsteczkowe z rdzeniem opartym na lipidach^{55,56}. Rdzeniem nanocząsteczki

mogą jednak też być białka. Zastosowanie nanocząstki jako rdzenia obłożonego antygenem ma na celu zwiększenie immunogenności poprzez aktywację większej ilości receptorów limfocytów B, a także zwiększenie opsonizacji antygeny przez przeciwciała i endocytozy przez komórki prezentujące antygen ⁹¹.

Rdzeniem nanocząstki białkowej może być cząsteczka wirusopodobna. Tego typu cząsteczki są komponentem dopuszczonych do obrotu szczepionek przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu B ⁹² oraz wirusowi brodawczaka ludzkiego HPV ⁹³. Za rdzeń może też służyć inne naturalne multimeryczne białko, przykładowo ferrytyna ⁹⁴ albo syntaza lumazyny ⁹⁵. Istnieją też multimeryczne białka zaprojektowane metodami komputerowymi ⁹⁶. Antygen może być połączony z rdzeniem cząsteczki chemicznie. Możliwe jest też połączenie ich za pomocą systemu Tag-Catcher, w którym dochodzi do powstania wiązania izopeptydowego między odpowiednią podjednostką (Catcher) i peptydem (Tag). Sam zaś Tag i Catcher muszą być genetycznie połączone z antygenem i białkiem nanocząstki. Ostatecznie możliwe jest też otrzymanie białka fuzyjnego składającego się z części tworzącej nanocząstkę i części tworzącej antygen ⁹¹.

W wypadku SARS-CoV-2 badania nad szczepionkami opartymi na nanocząstkach skupiły się na RBD i pełnym białku S, choć znane są też przykłady zastosowania innych fragmentów tego białka jako antygenów ^{97,98}.

Nanocząstka złożona z rdzenia pochodzącego z ferrytyny *Helicobacter pylori* oraz stabilizowanego białka S tworzących razem białko fuzyjne była wysoce immunogenna wobec myszy przy podaniu z adjuwantem zawierającym monofosforylowany lipid A (agonista TLR4) i saponiny mydłodrzewa właściwego. Pasywny transfer tych przeciwciał dawał odporność bierną przed zakażeniem SARS-CoV-2 u transgenicznym myszy ⁹⁸. Szczepionka ta była też skuteczna na modelu małpim (makak rebus, *Macaca mulatta*), a spadek neutralizacji względem wariantów alfa, beta, gamma i delta był dość niewielki (ok. 5-krotny) ⁹⁹.

Cohen i wsp. opracowali mozaikowe nanocząstki oparte na rdzeniu z zaprojektowanej komputerowo nanocząstki SpyCatcher003-mi3 opartej na aldolazie 2-keto-3-deoksy-fosfoglukonianu bakterii *Thermotoga maritima*. Elementem rdzenia były też podjednostki SpyCatcher003, które mają zdolność trwałego łączenia się z peptydem SpyTag. Nanocząstki zostały opłaszczane RBD różnych koronawirusów spokrewnionych z SARS-CoV-2 i/lub RBD pochodzącą z SARS-CoV-2. Gdy wykorzystano te nanocząstki do zaszczepienia myszy, średnie miano przeciwciał neutralizujących wirusa SARS-CoV-2 było wyższe, gdy nanocząstki zawierały RBD innych koronawirusów oprócz

samego SARS-CoV-2. Ponadto, RBD SARS-CoV-2 nieskoniugowana z nanocząstką była słabo immunogenna^{100,101}.

Podobne rezultaty uzyskali też Walls i wsp. Wykorzystali oni zaprojektowane komputerowo ikozaedryczne nanocząstki I53-50 składające się trimerycznych i pentamerycznych komponentów¹⁰². Komponenty te tworzą pełne nanocząstki dopiero w momencie zetknięcia się. RBD SARS-CoV-2 zostały genetycznie skoniugowane z komponentem tworzącym trimery. Nanocząstki I53-50 zawierające RBD na swojej powierzchni wywoływały silną odpowiedź humoralną u myszy nawet w dawkach tak niskich jak 0,1 µg (po dwóch dawkach szczepionki), a w dawce 1 µg (też 2 dawki) chroniły przed infekcją wirusem SARS-CoV-2 zaadaptowanym do myszy^{103,104}. Ponadto, Walls i wsp. opracowali też mozaikowe nanocząstki zawierające RBD koronawirusów SARS-CoV-2, RaTG13, SARS-CoV i WIV1. Szczepienie tymi nanocząstkami zapewniało silnie neutralizującą odpowiedź humoralną przeciw SARS-CoV i SARS-CoV-2; nie niższą niż szczepienie z wykorzystaniem nanocząstek zawierających tylko RBD odpowiednio SARS-CoV i SARS-CoV-2. Stwierdzono też, że nanocząstki zawierające RBD koronawirusów SARS-CoV-2, RaTG13 i WIV1 skutecznie chroniły myszy przed infekcją zaadaptowanym do myszy wirusem SARS-CoV MA15¹⁰⁴.

Ma i wsp. opracowali nanocząstki zawierające rdzeń złożony z ferrytyny *H. pylori* połączonej z podjednostką SpyCatcher. Nanocząstki te obłożone były RBD lub RBD wraz z podjednostką Heptad repeat 1 (powtórzenia heptad 1, HR1) odpowiedzialną za fuzję wirusa z błoną komórki; obie podjednostki wirusa były skoniugowane z peptydem SpyTag. Miano przeciwciał neutralizujących wirusa SARS-CoV-2 było nieco niższe dla nanocząstek zawierających RBD i HR1 u transgenicznym myszy K18-hACE2 w porównaniu z nanocząstkami zawierającymi wyłącznie RBD. Po szczepieniu z wykorzystaniem nanocząstek zawierających RBD i HR1 zaobserwowano jednak zwiększoną odpowiedź T-komórkową oraz zwiększoną, choć nadal dość słabą neutralizację innych koronawirusów niż SARS-CoV-2⁹⁷.

Sun i wsp. połączyli strategię multimerycznej prezentacji antygeny na nanocząstkach oraz szczepienia z wykorzystaniem modRNA. Modyfikowane RNA kodujące białko fuzyjne RBD połączone z foldonem (domeną trimeryzacji fibrytyny faga T4) i ferrytyną zostało opakowane w kationowe nanocząstki lipidowe. Tak otrzymana szczepionka była bardziej immunogenna u myszy niż szczepionka zawierająca mRNA kodujące RBD połączone z foldonem, co sprawiało, że w jej wypadku prezentacja antygeny miała także charakter multimeryczny, ale ograniczony jedynie do trimery. Wzrost immunogenności

dotyczył zarówno miana przeciwciał neutralizujących, jak i ilości reaktywnych limfocytów we krwi. Szczepionka nanocząsteczkowa zapewniała podobną odpowiedź immunologiczną już w 10 razy mniejszej dawce. Zapewniała też ochronę przed zakażeniem SARS-CoV-2 na modelu mysim. Stworzono też szczepionki zawierające modRNA kodujące RBD zawierające mutacje odpowiadające RBD wariantów alfa (B.1.1.7) i beta SARS-CoV-2 (B.1.351). Stwierdzono, że najszerszy zakres odpowiedzi immunologicznej u myszy zapewniła szczepionka zawierająca równą ilość modRNA kodujących wszystkie trzy badane warianty RBD ¹⁰⁵.

Szczepionki oparte na nanocząstkach białkowych niewątpliwie miały duży potencjał w walce z SARS-CoV-2 i COVID-19. Bardzo interesująca wydaje się możliwość uzyskania szerokiego zakresu odporności przeciw różnym wirusom z podrodzaju *Sarbecoviridae* dzięki umieszczeniu immunogennych białek pochodzących z różnych koronawirusów na powierzchni nanocząstki. Być może zapewniłaby ona skuteczną odpowiedź przeciwko wszystkim wariantom SARS-CoV-2. Za niewykorzystaną szansę można zaś uznać możliwość zakodowania nanocząstki białkowej w modRNA lub w wektorze adenowirusowym, co mogłoby sprawić, że szczepionki dostępne w obrocie byłyby bardziej skuteczne.

5. Podsumowanie

Wymienione w niniejszym rozdziale technologie i rozwiązania z dużą dozą prawdopodobieństwa mogłyby być zastosowane do opracowania skuteczniejszych, tańszych w produkcji lub łatwiejszych w podaży szczepionek przeciw SARS-CoV-2. Choć niektóre z rozwiązań wymagałyby opracowania odpowiednich procesów w celu umożliwienia produkcji na skalę przemysłową, jak na przykład opracowanie procesu składania nanocząstek białkowych lub produkcji niezbędnych białek, inne byłyby stosunkowo łatwe w implementacji. Zastosowanie wektorów adenowirusowych takich jak te w obecnych na rynku szczepionkach do szczepienia donosowego albo wymiana kodowanych białek na białka tworzące nanocząstki w wypadku modRNA i wektorów adenowirusowych nie powinna przysporzyć znacznych problemów ze względu na elastyczność tych platform. Co za tym idzie, szczepionki przeciw COVID-19, które wykazywałyby jeszcze większą skuteczność, były w zasięgu ręki od samego początku pandemii.

Referencje

1. COVID-19 weekly epidemiological update - 5 April 2022 [Internet]. 2022. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-weekly-epidemiological-update>
2. Abu-Raddad LJ, Chemaitelly H, Bertollini R. Waning mRNA-1273 Vaccine Effectiveness against SARS-CoV-2 Infection in Qatar. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2022 Jan 26;386(11):1091–3. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2119432>
3. Levin EG, Lustig Y, Cohen C, Fluss R, Indenbaum V, Amit S, Doolman R, Asraf K, Mendelson E, Ziv A, Rubin C, Freedman L, Kreiss Y, Regev-Yochay G. Waning Immune Humoral Response to BNT162b2 Covid-19 Vaccine over 6 Months. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2021 Oct 6;385(24):e84. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2114583>
4. Gray G, Collie S, Goga A, Garrett N, Champion J, Seocharan I, Bamford L, Moultrie H, Bekker LG. Effectiveness of Ad26.COV2.S and BNT162b2 Vaccines against Omicron Variant in South Africa. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2022 May 4; Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2202061>
5. Keshavarz B, Richards NE, Workman LJ, Patel J, Muehling LM, Canderan G, Murphy DD, Brovero SG, Ailsworth SM, Eschenbacher WH, McGowan EC, Mann BJ, Nelson MR, Kadl A, Woodfolk JA, Platts-Mills TAE, Wilson JM. Trajectory of IgG to SARS-CoV-2 After Vaccination With BNT162b2 or mRNA-1273 in an Employee Cohort and Comparison With Natural Infection [Internet]. Vol. 13, *Frontiers in Immunology*. 2022. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2022.850987>
6. Rosenberg ES, Dorabawila V, Easton D, Bauer UE, Kumar J, Hoen R, Hoefer D, Wu M, Lutterloh E, Conroy MB, Greene D, Zucker HA. Covid-19 Vaccine Effectiveness in New York State. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2021 Dec 1;386(2):116–27. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2116063>
7. Andrews N, Stowe J, Kirsebom F, Toffa S, Rieckard T, Gallagher E, Gower C, Kall M, Groves N, O’Connell AM, Simons D, Blomquist PB, Zaidi A, Nash S, Iwani Binti Abdul Aziz N, Thelwall S, Dabrera

- G, Myers R, Amirthalingam G, Gharbia S, Barrett JC, Elson R, Ladhani SN, Ferguson N, Zamboni M, Campbell CNJ, Brown K, Hopkins S, Chand M, Ramsay M, Lopez Bernal J. Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2022 Mar 2;386(16):1532–46. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2119451>
8. Peng Q, Zhou R, Wang Y, Zhao M, Liu N, Li S, Huang H, Yang D, Au KK, Wang H, Man K, Yuen KY, Chen Z. Waning immune responses against SARS-CoV-2 variants of concern among vaccinees in Hong Kong. *eBioMedicine* [Internet]. 2022 Mar 1;77. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103904>
9. Jiang S, He Y, Liu S. SARS Vaccine Development. *Emerging Infectious Disease journal* [Internet]. 2005;11(7):1016. Available from: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/11/7/05-0219_article
10. Wang Q, Wong G, Lu G, Yan J, Gao GF. MERS-CoV spike protein: Targets for vaccines and therapeutics. *Antiviral Research* [Internet]. 2016;133:165–77. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354216301826>
11. Wang SF, Tseng SP, Yen CH, Yang JY, Tsao CH, Shen CW, Chen KH, Liu FT, Liu WT, Chen YMA, Huang JC. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [Internet]. 2014;451(2):208–14. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X14013321>
12. Yip MS, Leung NHL, Cheung CY, Li PH, Lee HHY, Daëron M, Peiris JSM, Bruzzone R, Jaume M. Antibody-dependent infection of human macrophages by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Virology Journal* [Internet]. 2014;11(1):82. Available from: <https://doi.org/10.1186/1743-422X-11-82>
13. Yasui F, Kai C, Kitabatake M, Inoue S, Yoneda M, Yokochi S, Kase R, Sekiguchi S, Morita K, Hishima T, Suzuki H, Karamatsu K, Yasutomi Y, Shida H, Kidokoro M, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M. Prior Immunization with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-Associated Coronavirus (SARS-CoV) Nucleocapsid Protein Causes Severe Pneumonia in Mice Infected with SARS-CoV. *The Journal of Immunology*. 2008;181(9).

14. Deming D, Sheahan T, Heise M, Yount B, Davis N, Sims A, Suthar M, Harkema J, Whitmore A, Pickles R, West A, Donaldson E, Curtis K, Johnston R, Baric R. Vaccine efficacy in senescent mice challenged with recombinant SARS-CoV bearing epidemic and zoonotic spike variants. *PLoS Medicine*. 2006;3(12).
15. Bolles M, Deming D, Long K, Agnihothram S, Whitmore A, Ferris M, Funkhouser W, Gralinski L, Tatura A, Heise M, Baric RS. A Double-Inactivated Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Vaccine Provides Incomplete Protection in Mice and Induces Increased Eosinophilic Proinflammatory Pulmonary Response upon Challenge. *Journal of Virology*. 2011;85(23).
16. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, Perez JL, Pérez Marc G, Moreira ED, Zerbini C, Bailey R, Swanson KA, Roychoudhury S, Koury K, Li P, Kalina W v, Cooper D, Frenck RW, Hammitt LL, Türeci Ö, Nell H, Schaefer A, Ünal S, Tresnan DB, Mather S, Dormitzer PR, Şahin U, Jansen KU, Gruber WC. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2020 Dec 10;383(27):2603–15. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2034577>
17. Baden LR, el Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, Diekmert D, Spector SA, Rouphael N, Creech CB, McGettigan J, Khetan S, Segall N, Solis J, Brosz A, Fierro C, Schwartz H, Neuzil K, Corey L, Gilbert P, Janes H, Follmann D, Marovich M, Mascola J, Polakowski L, Ledgerwood J, Graham BS, Bennett H, Pajon R, Knightly C, Leav B, Deng W, Zhou H, Han S, Ivarsson M, Miller J, Zaks T. Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2020 Dec 30;384(5):403–16. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2035389>
18. Kramps T, Elbers K. Introduction to RNA vaccines. In: *Methods in Molecular Biology*. 2017.
19. Reichmuth AM, Oberli MA, Jeklenec A, Langer R, Blankschtein D. mRNA vaccine delivery using lipid nanoparticles. *Therapeutic Delivery*. 2016;7(5).

20. Assessment report Comirnaty [Internet]. Amsterdam; 2021. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/comirnaty>
21. Assessment report COVID-19 Vaccine Moderna [Internet]. Amsterdam; 2021. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spikevax>
22. Svitkin Y v., Cheng YM, Chakraborty T, Presnyak V, John M, Sonenberg N. N1-methyl-pseudouridine in mRNA enhances translation through eIF2 α -dependent and independent mechanisms by increasing ribosome density. *Nucleic Acids Research*. 2017;45(10).
23. Morais P, Adachi H, Yu YT. The Critical Contribution of Pseudouridine to mRNA COVID-19 Vaccines. Vol. 9, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021.
24. Andries O, Mc Cafferty S, de Smedt SC, Weiss R, Sanders NN, Kitada T. N1-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *Journal of Controlled Release*. 2015 Nov 10;217:337–44.
25. Li C, Lee A, Grigoryan L, Arunachalam PS, Scott MKD, Trisal M, Wimmers F, Sanyal M, Weidenbacher PA, Feng Y, Adamska JZ, Valore E, Wang Y, Verma R, Reis N, Dunham D, O'Hara R, Park H, Luo W, Gitlin AD, Kim P, Khatri P, Nadeau KC, Pulendran B. Mechanisms of innate and adaptive immunity to the Pfizer-BioNTech BN-T162b2 vaccine. *Nature Immunology* [Internet]. 2022;23(4):543–55. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01163-9>
26. Naranbhai V, Garcia-Beltran WF, Chang CC, Berrios Mairena C, Thierauf JC, Kirkpatrick G, Onozato ML, Cheng J, St Denis KJ, Lam EC, Kaseke C, Tano-Menka R, Yang D, Pavlovic M, Yang W, Kui A, Miller TE, Astudillo MG, Cahill JE, Dighe AS, Gregory DJ, Poznansky MC, Gaiha GD, Balazs AB, Iafrate AJ. Comparative Immunogenicity and Effectiveness of mRNA-1273, BNT162b2, and Ad26.COV2.S COVID-19 Vaccines. *The Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2022 Apr 1;225(7):1141–50. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab593>

27. Mevorach D, Anis E, Cedar N, Bromberg M, Haas EJ, Nadir E, Olsha-Castell S, Arad D, Hasin T, Levi N, Asleh R, Amir O, Meir K, Cohen D, Dichtiar R, Novick D, HersHKovitz Y, Dagan R, Leitersdorf I, Ben-Ami R, Miskin I, Saliba W, Muhsen K, Levi Y, Green MS, Keinan-Boker L, Alroy-Preis S. Myocarditis after BNT162b2 mRNA Vaccine against Covid-19 in Israel. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2021 Oct 6;385(23):2140–9. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2109730>
28. Oster ME, Shay DK, Su JR, Gee J, Creech CB, Broder KR, Edwards K, Soslow JH, Dendy JM, Schlaudecker E, Lang SM, Barnett ED, Ruberg FL, Smith MJ, Campbell MJ, Lopes RD, Sperling LS, Baumbblatt JA, Thompson DL, Marquez PL, Strid P, Woo J, Pugsley R, Reagan-Steiner S, DeStefano F, Shimabukuro TT. Myocarditis Cases Reported After mRNA-Based COVID-19 Vaccination in the US From December 2020 to August 2021. *JAMA* [Internet]. 2022 Jan 25;327(4):331–40. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2021.24110>
29. Larson KF, Ammirati E, Adler ED, Cooper LT, Hong KN, Saponara G, Couri D, Cereda A, Procopio A, Cavalotti C, Oliva F, Sanna T, Ciconte VA, Onyango G, Holmes DR, Borgeson DD. Myocarditis After BNT162b2 and mRNA-1273 Vaccination. *Circulation* [Internet]. 2021 Aug 10;144(6):506–8. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055913>
30. Logunov DY, Dolzhikova I v., Zubkova O v., Tikhvatullin AI, Shchablyakov D v., Dzharullaeva AS, Grousova DM, Erokhova AS, Kovyrshina A v., Botikov AG, Izhaeva FM, Popova O, Ozharovskaya TA, Esmagambetov IB, Favorskaya IA, Zrelkin DI, Voronina D v., Shcherbinin DN, Semikhin AS, Simakova Y v., Tokarskaya EA, Lubenets NL, Egorova DA, Shmarov MM, Nikitenko NA, Morozova LF, Smolyarchuk EA, Kryukov E v., Babira VF, Borisevich S v., Naroditsky BS, Gintsburg AL. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *The Lancet*. 2020;396(10255).
31. Zhu FC, Guan XH, Li YH, Huang JY, Jiang T, Hou LH, Li JX, Yang BF, Wang L, Wang WJ, Wu SP, Wang Z, Wu XH, Xu JJ,

- Zhang Z, Jia SY, Wang B sen, Hu Y, Liu JJ, Zhang J, Qian XA, Li Q, Pan HX, Jiang HD, Deng P, Gou JB, Wang XW, Wang XH, Chen W. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*. 2020;396(10249).
32. Assessment Report COVID-19 Vaccine Janssen [Internet]. Amsterdam; 2021. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/covid-19-vaccine-janssen>
33. Dicks MDJ, Spencer AJ, Edwards NJ, Wadell G, Bojang K, Gilbert SC, Hill AVS, Cottingham MG. A novel chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: Improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity. *PLoS ONE*. 2012;7(7).
34. Assessment report COVID-19 Vaccine AstraZeneca [Internet]. Amsterdam; 2021. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca>
35. Sheng WH, Chang SY, Lin PH, Hsieh MJ, Chang HH, Cheng CY, Yang HC, Pan CF, Jeong SM, Chao TL, Chen JP, Cheng SH, Chang SC. Immune response and safety of heterologous ChAdOx1-nCoV-19/mRNA-1273 vaccination compared with homologous ChAdOx1-nCoV-19 or homologous mRNA-1273 vaccination. *Journal of the Formosan Medical Association* [Internet]. 2022;121(4):766–77. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929664622001012>
36. T. BA, J. BR, Daipayan S, Alicia TC, Kit CC, Emily B, Kasim W, John V, Eric W, D. TC, Magdalena LL, Petra F, Josh V, Dewight W, LeeAnn M, Meike H, M. NB, Lynda C, Scott U, Po-Lin C, J. RP, S. CT, L. PA, Abhishek S, J. BM. ChAdOx1 interacts with CAR and PF4 with implications for thrombosis with thrombocytopenia syndrome. *Science Advances* [Internet]. 2022 May 7;7(49):eabl8213. Available from: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abl8213>
37. List of COVID-19 vaccine authorizations - Wikipedia [Internet]. [cited 2022 Apr 13]. Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_COVID-19_vaccine_authorizations

38. WHO. Evidence Assessment: Sinovac/CoronaVac COVID-19 Vaccine. 2021.
39. Elveborg S, Monteil VM, Mirazimi A. Methods of Inactivation of Highly Pathogenic Viruses for Molecular, Serology or Vaccine Development Purposes. Vol. 11, Pathogens . 2022.
40. Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, Li Y, Zhu L, Wang N, Lv Z, Gao H, Ge X, Kan B, Hu Y, Liu J, Cai F, Jiang D, Yin Y, Qin C, Li J, Gong X, Lou X, Shi W, Wu D, Zhang H, Zhu L, Deng W, Li Y, Lu J, Li C, Wang X, Yin W, Zhang Y, Qin C. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science* (1979). 2020;369(6499).
41. Ghasemi S, Saffar KN, Ebrahimi F, Khatami P, Monazah A, Alizadeh GA, Ettehad HA, Rad I, Nojehdehi S, Kehtari M, Kouhkan F, Barjasteh H, Moradi S, Ghorbani MH, Khodaie A, Papizadeh M, Najafi R, Naghneh E, Sadeghi D, Rahjerdi AK. Development of inactivated FAKHRAVAC® vaccine against SARS-CoV-2 virus: Preclinical study in animal models. *Vaccines* (Basel). 2021;9(11).
42. Abdoli A, Aalizadeh R, Aminianfar H, Kianmehr Z, Teimoori A, Azimi E, Emamipour N, Eghtedardoost M, Siavashi V, Jamshidi H, Hosseinpour M, Taqavian M, Jalili H. Safety and potency of BIV-1-CovIran inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2: A preclinical study. *Reviews in Medical Virology*. 2021.
43. Kozlovskaya LI, Piniaeva AN, Ignatyev GM, Gordeychuk I v., Volok VP, Rogova Y v., Shishova AA, Kovpak AA, Ivin YY, Antonova LP, Mefyod KM, Prokosheva LS, Sibirskina AS, Tarasova YY, Bayurova EO, Gancharova OS, Illarionova V v., Glukhov GS, Sokolova OS, Shaitan K v., Moysenovich AM, Gulyaev SA, Gulyaeva T v., Moroz A v., Gmyl L v., Ipatova EG, Kirpichnikov MP, Egorov AM, Siniugina AA, Ishmukhametov AA. Long-term humoral immunogenicity, safety and protective efficacy of inactivated vaccine against COVID-19 (CoviVac) in preclinical studies. *Emerging Microbes and Infections*. 2021;10(1).
44. Zakarya K, Kutumbetov L, Orynbayev M, Abduraimov Y, Sultankulova K, Kassenov M, Sarsenbayeva G, Kulmagambetov I, Davlyatshin T, Sergeeva M, Stukova M, Khairullin B. Safety and

- immunogenicity of a QazCovid-in® inactivated whole-virion vaccine against COVID-19 in healthy adults: A single-centre, randomised, single-blind, placebo-controlled phase 1 and an open-label phase 2 clinical trials with a 6 months follow-up in Kazakhstan. *eClinical-Medicine*. 2021;39.
45. Zhugunissov K, Zakarya K, Khairullin B, Orynbayev M, Abduraimov Y, Kassenov M, Sultankulova K, Kerimbayev A, Nurabayev S, Myrzakhmetova B, Nakhanov A, Nurpeisova A, Chervyakova O, Assanzhanova N, Burashev Y, Mambetaliyev M, Azanbekova M, Kopeyev S, Kozhabergenov N, Issabek A, Tuyskanova M, Kutumbetov L. Development of the Inactivated QazCovid-in Vaccine: Protective Efficacy of the Vaccine in Syrian Hamsters. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12.
46. Xia S, Duan K, Zhang Y, Zhao D, Zhang H, Xie Z, Li X, Peng C, Zhang Y, Zhang W, Yang Y, Chen W, Gao X, You W, Wang X, Wang Z, Shi Z, Wang Y, Yang X, Zhang L, Huang L, Wang Q, Lu J, Yang Y, Guo J, Zhou W, Wan X, Wu C, Wang W, Huang S, Du J, Meng Z, Pan A, Yuan Z, Shen S, Guo W, Yang X. Effect of an Inactivated Vaccine Against SARS-CoV-2 on Safety and Immunogenicity Outcomes. *JAMA*. 2020;324(10).
47. Thiagarajan K. What do we know about India's Covaxin vaccine? Vol. 373, *The BMJ*. 2021.
48. Dar MA, Chauhan P, Kumar P, Chauhan R, Murti K, Charan J, Ravichandiran V, Dhingra S. Safety, efficacy, and immunogenicity of COVAXIN: A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2021;11(11).
49. Ella R, Vadrevu KM, Jogdand H, Prasad S, Reddy S, Sarangi V, Ganneru B, Sapkal G, Yadav P, Abraham P, Panda S, Gupta N, Reddy P, Verma S, Kumar Rai S, Singh C, Redkar SV, Gillurkar CS, Kushwaha JS, Mohapatra S, Rao V, Guleria R, Ella K, Bhargava B. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBV152: a double-blind, randomised, phase 1 trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2021;21(5).
50. Wang H, Zhang Y, Huang B, Deng W, Quan Y, Wang W, Xu W, Zhao Y, Li N, Zhang J, Liang H, Bao L, Xu Y, Ding L, Zhou W,

- Gao H, Liu J, Niu P, Zhao L, Zhen W, Fu H, Yu S, Zhang Z, Xu G, Li C, Lou Z, Xu M, Qin C, Wu G, Gao GF, Tan W, Yang X. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. *Cell*. 2020;182(3).
51. Thuluva S, Paradkar V, Turaga K, Gunneri S, Yerroju V, Mogulla R, Suneetha P v, Kyasani M, Manoharan SK, Adabala S, Javvadi AS, Medigeshi G, Singh J, Shaman H, Binayke A, Zaheer A, Awasthi A, Singh C, Venkateshwar Rao A, Basu I, Akash Ashok Kumar K, Pandey AK. Immunogenic superiority and safety of Biological E's CORBEVAX™ vaccine compared to COVISHIELD™ (ChAdOx1 nCoV-19) vaccine studied in a phase III, single blind, multicenter, randomized clinical trial. *medRxiv* [Internet]. 2022 Jan 1;2022.03.20.22271891. Available from: <http://medrxiv.org/content/early/2022/03/22/2022.03.20.22271891.abstract>
52. Li L, Honda-Okubo Y, Huang Y, Jang H, Carlock MA, Baldwin J, Piplani S, Bebin-Blackwell AG, Forgacs D, Sakamoto K, Stella A, Turville S, Chataway T, Colella A, Triccas J, Ross TM, Petrovsky N. Immunisation of ferrets and mice with recombinant SARS-CoV-2 spike protein formulated with Advax-SM adjuvant protects against COVID-19 infection. *Vaccine*. 2021;39(40).
53. Zhao X, Zheng A, Li D, Zhang R, Sun H, Wang Q, Gao GF, Han P, Dai L. Neutralisation of ZF2001-elicited antisera to SARS-CoV-2 variants. *The Lancet Microbe*. 2021;2(10).
54. Hsieh SM, Liu W da, Huang YS, Lin YJ, Hsieh EF, Lian WC, Chen C, Janssen R, Shih SR, Huang CG, Tai IC, Chang SC. Safety and immunogenicity of a Recombinant Stabilized Prefusion SARS-CoV-2 Spike Protein Vaccine (MVC-COV1901) Adjuvanted with CpG 1018 and Aluminum Hydroxide in healthy adults: A Phase 1, dose-escalation study. *eClinicalMedicine*. 2021;38.
55. Assessment report Nuvaxovid [Internet]. Amsterdam; 2022. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/nuvaxovid>
56. Product monograph Covifenz [Internet]. Medicago; 2022. Available from: <https://medicago.com/en/our-products/our-vaccines/covifenz-covid-19-vlp-vaccine/>

57. IRCT | Phase II, Safety and Immunogenicity of RAZI SARS-CoV-2 recombinant Spike protein vaccine (RAZI Cov Pars) in adults aged 18-70 years; a Randomised, double blind, parallel 2 arms clinical trial [Internet]. [cited 2022 Apr 13]. Available from: <https://en.irct.ir/trial/55238>
58. Bárcena J, Blanco E. Design of novel vaccines based on virus-like particles or chimeric virions. *Subcellular Biochemistry*. 2013;68.
59. Dobrovidova O. Latest Russian vaccine comes with a big dose of mystery. Vol. 372, *Science*. 2021.
60. Volunteers break rank to raise doubts in trial of Russia's second COVID-19 vaccine | Reuters [Internet]. [cited 2022 Apr 13]. Available from: <https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-russia-vaccine-let-idUSKBN2BI25B>
61. Valdes-Balbin Y, Santana-Mederos D, Quintero L, Fernández S, Rodríguez L, Sanchez Ramirez B, Perez-Nicado R, Acosta C, Méndez Y, Ricardo MG, Hernandez T, Bergado G, Pi F, Valdes A, Carmenate T, Ramirez U, Oliva R, Soubal JP, Garrido R, Cardoso F, Landys M, Gonzalez H, Farinas M, Enriquez J, Noa E, Suarez A, Fang C, Espinosa LA, Ramos Y, González LJ, Climent Y, Rojas G, Relova-Hernández E, Cabrera Infante Y, Losada SL, Boggiano T, Ojito E, León K, Chiodo F, Paquet F, Chen GW, Rivera DG, Garcia-Rivera D, Verev Bencomo V. SARS-CoV-2 RBD-Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine Induces a Strong Neutralizing Immunity in Preclinical Studies. *ACS Chemical Biology*. 2021;16(7).
62. Momin T, Kansagra K, Patel H, Sharma S, Sharma B, Patel J, Mittal R, Sanmukhani J, Maithal K, Dey A, Chandra H, Rajanathan CT, Pericherla HP, Kumar P, Narkhede A, Parmar D. Safety and Immunogenicity of a DNA SARS-CoV-2 vaccine (ZyCoV-D): Results of an open-label, non-randomized phase I part of phase I/II clinical study by intradermal route in healthy subjects in India. *eClinicalMedicine*. 2021;38.
63. Malherbe DC, Kurup D, Wirblich C, Ronk AJ, Mire C, Kuzmina N, Shaik N, Periasamy S, Hyde MA, Williams JM, Shi PY, Schnell MJ, Bukreyev A. A single dose of replication-competent VSV-vectored vaccine expressing SARS-CoV-2 S1 protects against virus replication in a hamster model of severe COVID-19. *npj Vaccines*. 2021;6(1).

64. Launay O, Artaud C, Lachâtre M, Ait-Ahmed M, Klein J, Luong Nguyen LB, Durier C, Jansen B, Tomberger Y, Jolly N, Grossmann A, Tabbal H, Brunet J, Gransagne M, Choucha Z, Batalie D, Delgado A, Müllner M, Tschismarov R, Berghmans PJ, Martin A, Ramsauer K, Escriou N, Gerke C. Safety and immunogenicity of a measles-vectored SARS-CoV-2 vaccine candidate, V591 / TMV-083, in healthy adults: results of a randomized, placebo-controlled Phase I study. *EBioMedicine* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2022 Apr 13];75:103810. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35045362>
65. Merck Discontinues Development of SARS-CoV-2/COVID-19 Vaccine Candidates; Continues Development of Two Investigational Therapeutic Candidates - Merck.com [Internet]. [cited 2022 Apr 13]. Available from: <https://www.merck.com/news/merck-discontinues-development-of-sars-cov-2-covid-19-vaccine-candidates-continues-development-of-two-investigational-therapeutic-candidates/>
66. Molecular clamp vaccines: lessons from a setback [Internet]. [cited 2022 Apr 13]. Available from: <https://www.nature.com/articles/d42473-020-00504-2>
67. Kremsner PG, Guerrero RAA, Arana E, Aroca Martinez GJ, Bonten MJM, Chandler R, Corral G, de Block EJJ, Ecker L, Gabor JJ, Garcia Lopez CA, Gonzales L, Granados González MA, Gorini N, Grobusch MP, Hrabar AD, Junker H, Kimura A, Lanata CF, Lehmann C, Leroux-Roels I, Mann P, Martinez-Reséndez MF, Ochoa T, Poy CA, Reyes Fentanes MJ, Mejia LMR, Ruiz Herrera VV, Sáez-Llorens X, Schönborn-Kellenberger O, Schunk M, Garcia AS, Vergara I, Verstraeten T, Vico M, Oostvogels L, Group HS. Efficacy and Safety of the CVnCoV SARS-CoV-2 mRNA Vaccine Candidate: Results from Herald, a Phase 2b/3, Randomised, Observer-Blinded, Placebo-Controlled Clinical Trial in Ten Countries in Europe and Latin America. *SSRN Electronic Journal*. 2021;
68. Bloom K, van den Berg F, Arbuthnot P. Self-amplifying RNA vaccines for infectious diseases. *Gene Therapy* [Internet]. 2021;28(3):117–29. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41434-020-00204-y>
69. Rupp JC, Sokoloski KJ, Gebhart NN, Hardy RW. Alphavirus RNA synthesis and non-structural protein functions. *Journal of General*

- Virology [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2022 May 7];96(9):2483–500. Available from: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.000249>
70. Pollock KM, Cheeseman HM, Szubert AJ, Libri V, Boffito M, Owen D, Bern H, O'Hara J, McFarlane LR, Lemm NM, McKay PF, Rampling T, Yim YTN, Milinkovic A, Kingsley C, Cole T, Fagerbrink S, Aban M, Tanaka M, Mehdipour S, Robbins A, Budd W, Faust SN, Hassanin H, Cosgrove CA, Winston A, Fidler S, Dunn DT, McCormack S, Shattock RJ. Safety and Immunogenicity of a Self-Amplifying RNA Vaccine Against COVID-19: COVAC1, a Phase I, Dose-Ranging Trial. SSRN Electronic Journal. 2021;
71. Beissert T, Koste L, Perkovic M, Walzer KC, Erbar S, Selmi A, Diken M, Kreiter S, Türeci Ö, Sahin U. Improvement of in Vivo Expression of Genes Delivered by Self-Amplifying RNA Using Vaccinia Virus Immune Evasion Proteins. In: Human Gene Therapy [Internet]. Mary Ann Liebert Inc.; 2017 [cited 2021 Jul 9]. p. 1138–46. Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hum.2017.121>
72. Blakney AK, McKay PF, Bouton CR, Hu K, Samnuan K, Shattock RJ. Innate Inhibiting Proteins Enhance Expression and Immunogenicity of Self-Amplifying RNA. Molecular Therapy [Internet]. 2021 Mar 3 [cited 2021 Jul 9];29(3):1174–85. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525001620306092>
73. Arcturus Reports Strong Three-Month Durability Results from ARCT-154 Booster Trial | Arcturus Therapeutics, Inc. [Internet]. [cited 2022 May 7]. Available from: <https://ir.arcturusrx.com/news-releases/news-release-details/arcturus-reports-strong-three-month-durability-results-arct-154>
74. Hassan AO, Kafai NM, Dmitriev IP, Fox JM, Smith BK, Harvey IB, Chen RE, Winkler ES, Wessel AW, Case JB, Kashentseva E, McCune BT, Bailey AL, Zhao H, VanBlargan LA, Dai YN, Ma M, Adams LJ, Shrihari S, Danis JE, Gralinski LE, Hou YJ, Schäfer A, Kim AS, Keeler SP, Weiskopf D, Baric RS, Holtzman MJ, Fremont DH, Curiel DT, Diamond MS. A Single-Dose Intranasal ChAd Vaccine Protects Upper and Lower Respiratory Tracts against SARS-CoV-2. Cell. 2020;183(1).

75. Bricker TL, Darling TL, Hassan AO, Harastani HH, Soung A, Jiang X, Dai YN, Zhao H, Adams LJ, Holtzman MJ, Bailey AL, Case JB, Fremont DH, Klein R, Diamond MS, Boon ACM. A single intranasal or intramuscular immunization with chimpanzee adenovirus-vectored SARS-CoV-2 vaccine protects against pneumonia in hamsters. *Cell Reports*. 2021;36(3).
76. Riese P, Sakthivel P, Trittel S, Guzmán CA. Intranasal formulations: Promising strategy to deliver vaccines. Vol. 11, *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2014.
77. Fukuyama Y, Tokuhara D, Kataoka K, Gilbert RS, McGhee JR, Yuki Y, Kiyono H, Fujihashi K. Novel vaccine development strategies for inducing mucosal immunity. Vol. 11, *Expert Review of Vaccines*. 2012.
78. Pilicheva B, Boyuklieva R. Can the nasal cavity help tackle COVID-19? *Pharmaceutics*. 2021;13(10).
79. Hassan AO, Shrihari S, Gorman MJ, Ying B, Yaun D, Raju S, Chen RE, Dmitriev IP, Kashentseva E, Adams LJ, Mann C, Davis-Gardner ME, Suthar MS, Shi PY, Saphire EO, Fremont DH, Curiel DT, Alter G, Diamond MS. An intranasal vaccine durably protects against SARS-CoV-2 variants in mice. *Cell Reports*. 2021;36(4).
80. Hassan AO, Feldmann F, Zhao H, Curiel DT, Okumura A, Tang-Huau TL, Case JB, Meade-White K, Callison J, Chen RE, Lovaglio J, Hanley PW, Scott DP, Fremont DH, Feldmann H, Diamond MS. A single intranasal dose of chimpanzee adenovirus-vectored vaccine protects against SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques. *Cell Reports Medicine*. 2021;2(4).
81. King RG, Silva-Sanchez A, Peel JN, Botta D, Dickson AM, Pinto AK, Meza-Perez S, Allie SR, Schultz MD, Liu M, Bradley JE, Qiu S, Yang G, Zhou F, Zumaquero E, Simpler TS, Mousseau B, Killian JT, Dean B, Shang Q, Tipper JL, Risley CA, Harrod KS, Feng T, Lee Y, Shiberu B, Krishnan V, Peguillet I, Zhang J, Green TJ, Randall TD, Suschak JJ, Georges B, Brien JD, Lund FE, Roberts MS. Single-dose intranasal administration of AdCOVID elicits systemic and mucosal immunity against SARS-CoV-2 and fully protects mice from lethal challenge. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(8).

82. Chung NH, Chen YC, Yang SJ, Lin YC, Dou HY, Hui-Ching Wang L, Liao CL, Chow YH. Induction of Th1 and Th2 in the protection against SARS-CoV-2 through mucosal delivery of an adenovirus vaccine expressing an engineered spike protein. *Vaccine* [Internet]. 2022;40(4):574–86. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X21016352>
83. Xu K, An Y, Li Q, Huang W, Han Y, Zheng T, Fang F, Liu H, Liu C, Gao P, Xu S, Liu X, Zhang R, Zhao X, Liu WJ, Bi Y, Wang Y, Zhou D, Wang Q, Hou W, Xia Q, Gao GF, Dai L. Recombinant chimpanzee adenovirus AdC7 expressing dimeric tandem-repeat spike protein RBD protects mice against COVID-19. *Emerging Microbes and Infections*. 2021;10(1).
84. van Doremalen N, Purushotham JN, Schulz JE, Holbrook MG, Bushmaker T, Carmody A, Port JR, Yinda CK, Okumura A, Saturday G, Amanat F, Krammer F, Hanley PW, Smith BJ, Lovaglio J, Anzick SL, Barbian K, Martens C, Gilbert SC, Lambe T, Munster VJ. Intranasal ChAdOx1 nCoV-19/AZD1222 vaccination reduces viral shedding after SARS-CoV-2 D614G challenge in preclinical models. *Science Translational Medicine*. 2021;13(607).
85. Tostanoski LH, Wegmann F, Martinot AJ, Loos C, McMahan K, Mercado NB, Yu J, Chan CN, Bondoc S, Starke CE, Nekorchuk M, Busman-Sahay K, Piedra-Mora C, Wrijil LM, Ducat S, Custers J, Atyeo C, Fischinger S, Burke JS, Feldman J, Hauser BM, Caradonna TM, Bondzie EA, Dagotto G, Gebre MS, Jacob-Dolan C, Lin Z, Mahrokhian SH, Nampanya F, Nityanandam R, Pessaint L, Porto M, Ali V, Benetiene D, Tevi K, Andersen H, Lewis MG, Schmidt AG, Lauffenburger DA, Alter G, Estes JD, Schuitemaker H, Zahn R, Barouch DH. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. *Nature Medicine*. 2020;26(11).
86. Ku MW, Bourguine M, Authié P, Lopez J, Nemirov K, Moncoq F, Noirat A, Vesin B, Nevo F, Blanc C, Souque P, Tabbal H, Simon E, Hardy D, le Dudal M, Guinet F, Fiette L, Mouquet H, Anna F, Martin A, Escriou N, Majlessi L, Charneau P. Intranasal vaccination with a lentiviral vector protects against SARS-CoV-2 in preclinical animal models. *Cell Host & Microbe* [Internet]. 2021;29(2):236–249.e6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312820306727>

87. Bošnjak B, Odak I, Barros-Martins J, Sandrock I, Hammerschmidt SI, Permanyer M, Patzer GE, Georgiev H, Gutierrez Jauregui R, Tscherne A, Schwarz JH, Kalodimou G, Ssebyatika G, Ciurkiewicz M, Willenzon S, Bubke A, Ristenpart J, Ritter C, Tüchel T, Meyer zu Natrup C, Shin DL, Clever S, Limpinsel L, Baumgärtner W, Krey T, Volz A, Sutter G, Förster R. Intranasal Delivery of MVA Vector Vaccine Induces Effective Pulmonary Immunity Against SARS-CoV-2 in Rodents. *Frontiers in Immunology*. 2021;12.
88. Jiang W, Shi L, Cai L, Wang X, Li J, Li H, Liang J, Gu Q, Ji G, Li J, Liu L, Sun M. A two-adjuvant multiantigen candidate vaccine induces superior protective immune responses against SARS-CoV-2 challenge. *Cell Reports* [Internet]. 2021;37(11):110112. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124721016065>
89. van der Ley PA, Zariri A, van Riet E, Oosterhoff D, Kruiswijk CP. An Intranasal OMV-Based Vaccine Induces High Mucosal and Systemic Protecting Immunity Against a SARS-CoV-2 Infection. *Frontiers in Immunology*. 2021;12.
90. Wong TY, Lee KS, Russ BP, Horspool AM, Kang J, Winters MT, Allison Wolf M, Rader NA, Miller OA, Shiflett M, Izac J, Varisco D, Sen-Kilic E, Cunningham C, Cooper M, Cyphert HA, Barbier M, Martinez I, Bevere JR, Ernst RK, Damron FH. Intranasal administration of BReC-CoV-2 COVID-19 vaccine protects K18-hACE2 mice against lethal SARS-CoV-2 challenge. *npj Vaccines* [Internet]. 2022;7(1):36. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00451-7>
91. Nguyen B, Tolia NH. Protein-based antigen presentation platforms for nanoparticle vaccines. Vol. 6, *npj Vaccines*. 2021.
92. Poland GA, Jacobson RM. Prevention of Hepatitis B with the Hepatitis B Vaccine. *New England Journal of Medicine*. 2004;351(27).
93. Schiller JT, Lowy DR. Understanding and learning from the success of prophylactic human papillomavirus vaccines. Vol. 10, *Nature Reviews Microbiology*. 2012.
94. Rodrigues MQ, Alves PM, Roldão A. Functionalizing ferritin nanoparticles for vaccine development. Vol. 13, *Pharmaceutics*. 2021.

95. Ladenstein R, Morgunova E. Second career of a biosynthetic enzyme: Lumazine synthase as a virus-like nanoparticle in vaccine development. Vol. 27, *Biotechnology Reports*. 2020.
96. Kang YF, Sun C, Zhuang Z, Yuan RY, Zheng Q, Li JP, Zhou PP, Chen XC, Liu Z, Zhang X, Yu XH, Kong XW, Zhu QY, Zhong Q, Xu M, Zhong NS, Zeng YX, Feng GK, Ke C, Zhao JC, Zeng MS. Rapid Development of SARS-CoV-2 Spike Protein Receptor-Binding Domain Self-Assembled Nanoparticle Vaccine Candidates. *ACS Nano*. 2021;15(2).
97. Ma X, Zou F, Yu F, Li R, Yuan Y, Zhang Y, Zhang X, Deng J, Chen T, Song Z, Qiao Y, Zhan Y, Liu J, Zhang J, Zhang X, Peng Z, Li Y, Lin Y, Liang L, Wang G, Chen Y, Chen Q, Pan T, He X, Zhang H. Nanoparticle Vaccines Based on the Receptor Binding Domain (RBD) and Heptad Repeat (HR) of SARS-CoV-2 Elicit Robust Protective Immune Responses. *Immunity*. 2020;53(6).
98. Joyce M. SARS-CoV-2 ferritin nanoparticle vaccines elicit broad SARS coronavirus immunogenicity. *Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances*. 2021;77(a1).
99. Gordon JM, D. KHA, Ines EN, Aslaa A, K. PK, Camila MC, Caroline S, E. CR, V. TP, Wei-Hung C, S. SR, Agnes H, J. ME, E. PC, C. CW, Misook C, Clayton S, J. LP, A. HJ, G. TM, A. EH, Anthony C, Alexander A, Kathryn MW, Ming D, Isabella S, Brett CJ, R. CJ, G. LK, Sebastian M, S. NM, Vincent D, P. DS, Xiankun Z, K. BE, M. SH, Kendra A, Ricardo C, J. KS, Dominic PP, Nicos K, R. PV, L. JL, F. AM, Sandhya V, T. SP, Yaoxing H, D. HD, Natalia de V, S. DM, G. LM, Mangala R, R. MG, D. GG, A. PS, L. MN, L. BD, Kayvon M. A SARS-CoV-2 ferritin nanoparticle vaccine elicits protective immune responses in nonhuman primates. *Science Translational Medicine* [Internet]. 2022 Apr 16;14(632):eabi5735. Available from: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abi5735>
100. Cohen AA, Gnanaprasasam PNP, Lee YE, Hoffman PR, Ou S, Kakutani LM, Keeffe JR, Wu HJ, Howarth M, West AP, Barnes CO, Nussenzweig MC, Bjorkman PJ. Mosaic nanoparticles elicit cross-reactive immune responses to zoonotic coronaviruses in mice. *Science* (1979). 2021;371(6530).

101. Bruun TUJ, Andersson AMC, Draper SJ, Howarth M. Engineering a Rugged Nanoscaffold to Enhance Plug-and-Display Vaccination. *ACS Nano*. 2018;12(9).
102. Bale JB, Gonen S, Liu Y, Sheffler W, Ellis D, Thomas C, Cascio D, Yeates TO, Gonen T, King NP, Baker D. Accurate design of megadalton-scale two-component icosahedral protein complexes. *Science* (1979). 2016;353(6297).
103. Walls AC, Fiala B, Schäfer A, Wrenn S, Pham MN, Murphy M, Tse L v., Shehata L, O'Connor MA, Chen C, Navarro MJ, Miranda MC, Pettie D, Ravichandran R, Kraft JC, Ogohara C, Palser A, Chalk S, Lee EC, Guerriero K, Kepl E, Chow CM, Sydeman C, Hodge EA, Brown B, Fuller JT, Dinnon KH, Gralinski LE, Leist SR, Gully KL, Lewis TB, Guttman M, Chu HY, Lee KK, Fuller DH, Baric RS, Kellam P, Carter L, Pepper M, Sheahan TP, Veessler D, King NP. Elicitation of Potent Neutralizing Antibody Responses by Designed Protein Nanoparticle Vaccines for SARS-CoV-2. *Cell*. 2020;183(5).
104. Walls AC, Miranda MC, Schäfer A, Pham MN, Greaney A, Arunachalam PS, Navarro MJ, Tortorici MA, Rogers K, O'Connor MA, Shirreff L, Ferrell DE, Bowen J, Brunette N, Kepl E, Zepeda SK, Starr T, Hsieh CL, Fiala B, Wrenn S, Pettie D, Sydeman C, Sprouse KR, Johnson M, Blackstone A, Ravichandran R, Ogohara C, Carter L, Tilles SW, Rappuoli R, Leist SR, Martinez DR, Clark M, Tisch R, O'Hagan DT, van der Most R, van Voorhis WC, Corti D, McLellan JS, Kleanthous H, Sheahan TP, Smith KD, Fuller DH, Villinger F, Bloom J, Pulendran B, Baric RS, King NP, Veessler D. Elicitation of broadly protective sarbecovirus immunity by receptor-binding domain nanoparticle vaccines. *Cell*. 2021;184(21).
105. Sun W, He L, Zhang H, Tian X, Bai Z, Sun L, Yang L, Jia X, Bi Y, Luo T, Cheng G, Fan W, Liu W, Li J. The self-assembled nanoparticle-based trimeric RBD mRNA vaccine elicits robust and durable protective immunity against SARS-CoV-2 in mice. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6(1).

WPŁYW STOSOWANIA MASEK NA WYSTĘPOWANIE I NASILENIE TRĄDZIKU W TRAKCIE PANDEMII COVID-19

STANISŁAW ANCZYK¹, MARTYNA GIAŁBAS², KAROL KRYSZEK³,
DARIA CHŁOSTA⁴, KAROLINA CECERKO⁴, HONORATA BUNIEWSKA⁴

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Dermatologii
Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Biofizyki im. Prof. Zbigniewa Religi w Zabrze,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakologii w Zabrzu,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
4. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Psychiatrii,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrzu, Śląski Uniwersytet Medyczny

Abstrakt:

Trądzik jest jedną z najpowszechniejszych chorób skóry na świecie. Powstaje w wyniku zaburzeń wydzielania łoju i keratynizacji mieszków włosowych, prowadząc do jego zatkania, nagromadzenia łoju i powstania stanu zapalnego w obrębie mieszka. Do przyczyn powstawania trądziku należą m.in. następstwa mechanicznego podrażnienia skóry, takie jak nasilenie wydzielania łoju, wzmożona keratynizacja mieszka, a także nasilenie stanu zapalnego. Podczas pandemii SARS-CoV-2, w celu ograniczenia rozprzestrzeniania zachorowań, zalecono powszechne stosowanie środków ochrony osobistej, takich jak maseczki. Stosowanie masek chirurgicznych zostało powiązane z największym ryzykiem wystąpienia niepożądanych reakcji skórnych, natomiast stosowanie maseczek materiałowych miało najmniejszy wpływ na powstawanie i nasilenie już istniejących zmian trądzikowych. Stosowanie masek powyżej 4 godzin w ciągu dnia stanowi poważny czynnik ryzyka wystąpienia niepożądanych powikłań skórnych, w postaci trądziku. Należy mieć na uwadze także fakt, iż nie tylko dłuższe, ale także częstsze stosowanie masek odbija się negatywnie na częstotliwość występowania powikłań ich noszenia.

Słowa kluczowe: trądzik, acne vulgaris, SARS-CoV-2

Abstract:

Acne is one of the most common skin diseases in the world. It arises as a result of disturbed sebum secretion and keratinization of the hair follicle, leading to its blockage, accumulation of sebum and inflammation within the follicle. The causes of acne include: the consequences of mechanical skin irritation, such as increased sebum secretion, increased keratinization of the follicle, and increased inflammation. During the SARS-CoV-2 pandemic to limit the spread of disease, using personal protective equipment, like facemasks, was recommended. The use of surgical masks was associated with the highest risk of adverse skin reactions, while the use of material masks had the smallest impact on the formation and severity of existing acne lesions. Moreover, use of masks for more than 4 hours a day is a serious risk factor for unwanted skin

complications in the form of acne. It should also be mentioned that not only the longer, but also more frequent use of masks increases the rate of side effects of wearing masks.

Keywords: Acne, Acne Vulgaris, SARS-CoV-2

1. Wstęp

Skóra jest największym narządem ludzkiego ciała. Jest zarówno jego pierwszą linią obrony przed patogenami, jak i elementem posiadającym kluczowe znaczenie w tworzeniu i utrzymywaniu specyficznych warunków wewnętrznych, regulacji cieplnej oraz wodno-oddechowej, czynnościach resorpcyjnych, a także metabolizmie białek, lipidów, węglowodanów i witamin czy procesach odpornościowych ustroju. Zbudowana jest z naskórka, skóry właściwej oraz tkanki podskórnej, a także przydatków, dzięki którym utrzymuje swoje funkcje. Należą do nich gruczoły łojowe, potowe, mieszki włosowe i naczynia krwionośne i chłonne oraz zakończenia nerwowe¹.

Gruczoły łojowe stanowią integralny element budowy skóry, niezbędny do jej prawidłowego funkcjonowania. Dostarczają bowiem 90% lipidów powierzchniowych skóry dzięki zdolności do ich produkcji oraz metabolizmu. Najważniejszą rolą gruczołów łojowych jest produkcja łoju. Charakteryzuje je holokrynowe wydzielanie, które polega na celowej autodestrukcji komórek produkujących łoż, sebocytów. Wydzielina gruczołów łojowych wyprowadzana jest do mieszków włosowych, a wydzielanie łoju wspomagane jest przez skurcz mięśni przywłosnych pod wpływem zimna lub bodźców psychicznych. Na czynność gruczołów łojowych mają również wpływ hormony, dihydrotestosteron, progesteron oraz kortyzol i aldosteron, wywołujące wzmożenie jego wydzielania, a także estrogeny i antyandrogeny powodując zmniejszenie jego wydzielania^{1,2}.

Trądzik pospolity (łac. *acne vulgaris*) i powiązane choroby oraz choroby gruczołów łojowych w rzeczywistości stanowią podgrupę związaną z zaburzeniami w zakresie funkcjonowania mieszków włosowych. Poza nimi w grupie tej znajduje się trądzik różowaty (łac. *rosacea*), który nie jest wliczany do grupy trądziku ze względu na odmienną etiopatogenezę, a także choroby związane z funkcjonowaniem gruczołów apokrynowych (ropnie mnogie pach). W przypadku chorób gruczołów łojowych najważniejsze znaczenie dla niniejszej pracy ma łojotok, który przejawia się jako stan nadmiernego wydzielania sebum, skutkujący przetłuszczaniem się skóry, co w konsekwencji może mieć związek z powstawaniem trądziku¹.

Klasyfikacja trądziku pospolitego bazuje głównie na różnicach

morfologicznych wyszczególnionych postaci. Z tego względu wyróżnia się trądzik zaskórnikowy (ED80.0 ang. *Comedonal Acne*), trądzik z przewagą wykwitów grudkowych i grudkowo-krostkowych (ED80.1, ang. *Superficial Comedonal and Papulopustular Acne*, ED80.2, ang. *Papulopustular Acne*), trądzik torbielowy, któremu towarzyszą torbiele ropne (ED80.3, ang. *Nodular Acne*). Dodatkowo klasyfikacja trądziku obejmuje rozmaite odmiany kliniczne, w postaci trądziku młodzieńczego (łac. *acne juvenilis*), ropowiczego (łac. *acne phlegmonosa*), skupionego (łac. *acne conglobata*), bliznowcowego (łac. *acne keloida*) oraz trądzik z objawami ogólnymi o ciężkim przebiegu (łac. *acne fulminans*). Ponadto wyróżnia się grupę trądzików wywołanych (zawodowy, polekowy, kosmetyczny, mechaniczny i niemowlęcy), które ustępują po usunięciu czynników wywołujących^{1,3}.

Kiedy w 2019 roku odkryto wirusa SARS-CoV-2, nie spodziewano się tak znaczącego wpływu tego patogenu na funkcjonowanie ludzkiego organizmu, a także zmian w stylu życia, które wymusiły obostrzenia związane z pandemią. W niniejszym rozdziale zawarta została analiza wpływu wystąpienia pandemii COVID-19 na zapadalność oraz nasilenie zmian chorobowych towarzyszących trądzikowi pospolitemu, z wyszczególnieniem roli stosowania masek, jako środków ochrony osobistej (PPE, ang. *Personal Protective Equipment*), w tym procesie. Omówione zostaną: zagadnienie trądziku, pandemii COVID-19, a także zmiany częstotliwości i intensywności występowania zmian trądzikowych po rozpowszechnieniu się wirusa na świecie oraz potencjalne związki przyczynowo skutkowe występujące pomiędzy wprowadzonymi obostrzeniami a trądzikiem. Celem poniższej analizy jest zobrazowanie związku przyczynowo skutkowego między stosowaniem środków ochrony osobistej, a nasileniem zmian trądzikowych, naświetlenie potencjalnych przyczyn zaistniałego stanu rzeczy.

2. Trądzik

Trądzik pospolity (łac. *acne vulgaris*) to choroba głównie osób młodych, związana jest z nadczynnością gruczołów łojowych. Cechuje ją obecność zaskórników (*comedones*), wykwitów grudkowo-krostkowych i torbieli ropnych umiejscowionych w okolicach łojotokowych¹.

2.1. Epidemiologia

Acne vulgaris to choroba dotycząca 85% populacji między 12-24 rokiem życia⁴. Choroba cechuje się zróżnicowanym nasileniem zmian (zmiany o stopniu łagodnym, umiarkowanym i ciężkim) oraz rozpowszechnieniem w populacji, w zależności od opisywanej grupy wiekowej. U pacjentów w wieku od 15 do 17 lat, w 15-20% przypadków obecne jest średnie i ciężkie nasilenie zmian^{6,7,8}. Wraz z wiekiem nasilenie zmian trądzikowych w ogólnej populacji maleje. W przedziale wiekowym od 20 do 29 lat problem trądziku dotyczył 64% badanych, natomiast w przedziale od 30 do 39 lat wartość ta spada do 43%. W przypadku osób między 40 a 49 rokiem życia zmiany trądzikowe występują u odpowiednio 3% mężczyzn oraz 5 % kobiet⁹⁻¹². Warto także zaznaczyć, iż trądzik jest najczęściej diagnozowana dermatozą w wysokorozwiniętych krajach europejskich⁹.

2.2. Patogeneza

Dotychczas ustalono, że w procesie powstawania zmian trądzikowych prym wiodą cztery różne procesy, przedstawione w tabeli 1. Na pierwsze miejsce wysuwa się zwiększona produkcja sebum przez gruczoły łojowe. Drugim istotnym czynnikiem jest kolonizacja skóry przez *Cutibacterium acnes* (dawniej *Propionibacterium acnes*), a trzecim mechanizmem są zaburzenia w procesie keratynizacji. Ostatnim ważnym procesem w powstawaniu trądziku jest uwalnianie mediatorów zapalnych w skórze.

Tabela 1. Główne przyczyny powstawania trądziku [opracowanie własne]

Główne znane przyczyny powstawania trądziku			
Zaburzenia pracy gruczołów łojowych	Kolonizacja niekorzystnymi szczepami <i>C. acnes</i>	Zaburzenia w keratynizacji	Uwalnianie mediatorów zapalnych w skórze

Wyszczególnia się różne podłoża i patomechanizm trądziku. Autorzy najczęściej wskazują czynniki genetyczne¹³⁻¹⁵, demograficzne, hormonalne, a także nawyki żywieniowe oraz styl życia¹⁶. Przeprowadzone badania bliźniąt oraz rodzin^{17,18} wykazały, że podatność na trądzik ma silną komponentę genetyczną. Badania kliniczno-kontrolne, obejmujące wiele grup etnicznych, bliźnięta oraz rodziny, wykazały silną dziedziczność trądziku, szacowaną nawet na 78%^{6-8,16}, a badania obejmujące bliźnięta monozygotyczne i dizygotyczne

wykazały większą zgodność, zarówno w zakresie występowania, jak i nasilenia zmian trądzikowych, u bliźniąt monozygotycznych¹⁸. W Badaniu na grupie 1002 Irańczyków w wieku 16 lat, obciążenie rodzinne podwajało szanse na wystąpienie trądziku¹⁵. W przypadku badania przeprowadzonego na chińskich studentach, dziedziczność trądziku wynosiła 78% w wypadku występowania u danej osoby krewnego 1 stopnia z trądzikiem w historii choroby¹⁹. Najnowsze badania nad genami kodującymi oraz badania asocjacyjne obejmujące cały genom (GWAS) wykazały, że geny i loci związane z występowaniem i nasileniem trądziku wpływają na funkcję i aktywność gruczołów łojowych lub reakcję immunologiczną i zapalną. Dwa takie loci podatności genowej znaleziono u Chińczyków Han⁹, a do 15 u osób rasy kaukaskiej^{10,11}. Na podparcie roli czynników genetycznych warto także przytoczyć większą skłonność populacji negroidalnej do wcześniejszego początku występowania zmian oraz większego ich nasilenia²⁰.

Na wpływ czynników hormonalnych, w procesie powstawania zmian trądzikowych, wskazuje największe nasilenie występowania zmian w okresie pokwitania. Zmienność dobową wydzielania hormonów, obserwowana w początkowym okresie dojrzewania płciowego, polega na uwalnianiu niewielkiej ilości LH w ciągu dnia i znacznym wzroście pulsacyjnego wydzielania podczas snu. W odpowiedzi na nocne wydzielanie LH wydzielane są steroidowe hormony płciowe, w zależności od płci w różnych okresach dnia²¹. Sebocyty pełnią istotną rolę w metabolizmie androgenów. Uważa się, że androgeny oddziałują na sebocyty za pośrednictwem szlaków sygnałowych receptorów androgenowych (AR, ang. *Androgen Receptor*) oraz receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksosomów (PPAR, ang. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*)²². Wzrost stężenia androgenów prowadzi do pobudzania pracy gruczołów łojowych, co może skutkować gromadzeniem się łoju i powstawania trądziku²³. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku patologicznego hiperandrogenizmu, między innymi w przebiegu PCOS. Hiperandrogenizm znacząco przyczynia się do nasilenia zmian skórnych w przebiegu wyżej wymienionej choroby²⁴.

Czynniki dietetyczne, prawdopodobnie z uwagi na wpływ na cztery podstawowe mechanizmy powstawania trądziku, pełnią istotną rolę w modyfikacji przebiegu choroby. Pierwotnie doszukiwano się związku pomiędzy spożywaniem poszczególnych produktów a nasileniem zmian trądzikowych. Pomimo początkowych założeń, nie wykazano bezpośredniego związku przyczynowo-skutkowego, pomiędzy spożyciem czekolady a nasileniem zmian trądzikowych²⁵. Biorąc pod uwagę poszczególne grupy produktów obserwuje

się bezpośredni wpływ dużego spożycia produktów mlecznych jako istotnego czynnika promującego wystąpienie i nasilenie obecnych zmian trądzikowych. Prawdopodobnie ma to związek z odpowiedzią układu immunologicznego na białka zawarte w mleku i jego przetworach²⁶. Wykazano również związek stosowania diety o niskim indeksie glikemicznym ze zmniejszeniem nasilenia zmian trądzikowych, a także korelację między występowaniem i nasileniem otyłości, a występowaniem i nasileniem zmian trądzikowych^{23,28}.

Doszukiwano się także innych czynników, mających wpływ na rozwój trądziku, takich jak: palenie tytoniu¹¹, insulinooporność i wysoki poziom dehydroepiandrosteronu w surowicy podczas przebiegu Zespołu Policystycznych Jajników (PCOS, ang. *Polycystic Ovary Syndrome*)^{30,31}, traktowanie skóry tłustymi kosmetykami³², zażywanie poszczególnych leków³³, przebywanie w wilgotnym i ciepłym środowisku³⁴ nadmierne pocenie a także mechaniczne drażnienie skóry przez np. ubrania oraz wpływu czynników mikrobiologicznych. Niektórzy autorzy zwracają uwagę także na związek występowania trądziku z ekspozycją na światło słoneczne oraz higieną skóry³⁵, lecz na chwilę obecną nie wykazano bezpośredniego związku wpływu światła słonecznego oraz modyfikacji zabiegów higienicznych skóry na nasilenie występowania trądziku spośród prowadzonych badań³⁶.

Literatura za główną i podstawową przyczynę występowania *acne vulgaris* wskazuje predyspozycje do nadmiernego wytwarzania łoju i rogowacenia mieszków włosowych. Oba te procesy prowadzą do zatkania ujścia gruczołów łojowych na powierzchni skóry. W wyniku zatkania ujścia gruczołów dochodzi do wytworzenia środowiska beztlenowego, które sprzyja namnażaniu się bakterii lub ewentualnemu nadkażeniu. W następstwie, dochodzi do uszkodzenia mieszka włosowego i powstania stanu zapalnego¹. Sam proces hiperkeratynizacji jest odpowiedzią mieszka włosowego na drażnienie poprzez nadmierną produkcję łoju, czynniki zapalne, działanie hormonów androgenowych lub chemiczne czynniki drażniące oraz potencjalnie jako efekt niedoborów kwasu linolowego. W konsekwencji, dochodzi do hiperprolifracji komórek mieszka włosowego, ich hiperkeratynizacji, co prowadzi do zamknięcia ujścia gruczołów łojowych i gromadzenia w nich łoju. Brak ewakuacji nadmiaru łoju dodatkowo podrażnia mieszek, tym samym nasilając powyższe procesy³⁷.

Rozwój badań nad kulturami komórkowymi z czasem pozwolił na lepsze poznanie roli lipidów łojowych oraz mediatorów stanu zapalnego w tym MMP (ang. *matrix metalloproteinase*), w procesach komedogennych. W metaanalizie, oceniającej wpływ genów na występowanie oraz nasilenie trądziku, wykazano wpływ określonych wariantów TNF (ang. *Tumor Necrosis*

Factor), IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-17F, ich receptorów i antagonistów (IL1RN, IL4R, IL17RB i IL23R) oraz rodziny receptorów Toll-podobnych (TLR4, TLR2) na rozwój i nasilenie trądziku w różnych badanych populacjach³⁸.

Zagłębiając się w przyczyny powstawania trądziku, należy zwrócić także szczególną uwagę na *C. acnes*, który jako bakteria oportunistyczna, pełniąc istotne funkcje w utrzymaniu skóry w homeostazie, posiada wiele różnych fenotypów, z czego te, premiowane przez skórę hiperłojotokową, posiadają udokumentowany wpływ na rozwój i nasilenie zmian trądzikowych³⁹. *C. acnes* zasiedla gruczoły łojowe. Badania sugerują, że bakteria ta ma zdolność do aktywacji ścieżki inflamasomu NLRP3, w rezultacie wywołując podwyższenie poziomu IL-1 β , a tym samym przyczynia się do powstawania trądziku⁴⁰. Dodatkowo, odpowiedź immunologiczna przeciw *C. acnes* może być kontrolowana przez TGF β , które biorą również udział w syntezie lipidów przez sebocyty. Co więcej, *C. acnes* może być rozpoznawana przez receptory rozpoznające wzorce (PRR z ang. *Pattern Recognition Receptors*), takie jak TLR2 i TLR4, które to nasilają odpowiedź immunologiczną, skierowaną przeciw wyżej wymienionej bakterii⁴¹.

Analizując nasilenie trądziku podczas pandemii należy mieć także na uwadze występowanie trądziku mechanicznego, będącego konsekwencją fizycznego podrażniania skóry. Ponadto doszukuje się dodatkowego wpływu ciepła i wilgoci na wzrost częstotliwości jego występowania oraz nasilenie zaostżeń zmian już obecnych^{39,42}.

2.3. Metody terapii

Obecnie stosowane metody leczenia trądziku opierają się na wiedzy zawartej w konsensusie Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Dobór terapii w największym stopniu zależy od nasilenia objawów. Głównym celem obecnie stosowanych terapii jest łagodzenie istniejących zmian, a także ich następstw, w szczególności bliznowacenia.

W przypadku zmian o niedużym nasileniu, preferowaną terapią jest leczenie miejscowe, z uwagi na niski wpływ na cały organizm, z zachowaniem dobrego efektu terapeutycznego⁴³. W praktyce klinicznej stosuje się retinoidy, nadtlenek benzoilu oraz kwas azelainowy w monoterapii lub w terapii skojarzonej z kwasem salicyłowym i/lub antybiotykami (erytromycyna/klindamycyna, z uwagi na szybkie występowania antybiotykooporności^{44,45}). Ponadto, w przypadku terapii skojarzonej z zastosowaniem antybiotykoterapii, należy

robić przerwy w terapii antybiotykiem, z włączeniem do terapii na ten okres preparatów z nadtlenkiem benzoilu, co znacznie redukuje ryzyko wystąpienia antybiotykooporności i poprawia ogólny efekt leczenia⁴⁵. Należy zwrócić także uwagę na zwiększoną efektywność leczenia skojarzonego, w odniesieniu do monoterapii, co pozwala na znaczne skrócenie terapii, a także zmniejszenia ryzyka nawrotów w przyszłości⁴⁵. Stosowanie leczenia miejscowego podczas pandemii SARS-COV-2 może prowadzić do zmniejszenia efektywności terapii, z uwagi na potęgowanie dyskomfortu, wynikającego z obecności preparatów miejscowych na twarzy przy założonej maseczce, a także częściowe usuwanie preparatu w trakcie zdejmowania maski.

Przy wystąpieniu zmian o nasileniu umiarkowanym i ciężkim oraz w szczególnych przypadkach występowania zmian łagodnych, takich jak istotne upośledzenie jakości życia przez trądzik lub znaczne ryzyko bliznowacenia, należy włączyć terapię ogólną. W terapii ogólnej trądziku podstawową formą leczenia jest stosowanie antybiotykoterapii. Lekami pierwszego rzutu są tetracykliny (limecyklina i doksycyklina). W razie nieskuteczności lub braku tolerancji, a także innych przeciwwskazań do ich stosowania, zaleca się chlorowodork tetracykliny lub makrolidy. Powyższe grupy leków oprócz klasycznego działania bakteriostatycznego posiadają także swoiste działanie w leczeniu trądziku. Poprzez hamowanie chemotaksji neutrofilów, zmniejszanie produkcji cytokin i prostaglandyn, a także zmniejszenie populacji *C. acnes*, leki te działają kierunkowo na dwie główne przyczyny trądziku.^{44,45,46} Dodatkowo niewskazane jest łączenie terapii tetracyklinami z retinoidami stosowanymi ogólnoustrojowo, z uwagi na ryzyko rozwoju pseudotumor cerebri, a także interakcję z innymi lekami np. doustnymi preparatami antykoncepcyjnymi, poprzez dużą zdolność do wypierania leków z połączeń z białkami⁴⁴.

Obecnie coraz większą uwagę w leczeniu ogólnym trądziku zyskują retinoidy. Z uwagi na wpływ na cykl komórkowy komórek nabłonka, prowadzą do zmniejszenia proliferacji, różnicowania oraz aktywności sebocytów. Pozwala to na istotne zahamowanie podstawowych czynników wywołujących trądzik już po kilku tygodniach terapii u nawet 90% pacjentów objętych leczeniem^{48,49}. Kolejną zaletą tej terapii jest brak konieczności stosowania preparatów miejscowych, co ułatwia współpracę z pacjentem, a tym samym zwiększa skuteczność tej metody terapeutycznej w praktyce⁴⁴. W trakcie terapii retinoidami nie dochodzi do wykształcenia oporności na leczenie, co pozwala na jej wielokrotne stosowanie. Dodatkowo pełna remisja choroby po pierwszym cyklu leczenia występuje u około 60% pacjentów, a także obecne jest mniejsze ryzyko nasilenia zmian podczas nawrotów, w odniesieniu do okresu sprzed terapii^{44,49}.

Mimo to, stosowanie retinoidów posiada także wiele ograniczeń, wynikających z bardzo szerokiego spektrum ich działania i wiąże się z dużym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych (głównie teratogenność, zaburzenia poziomu lipidów we krwi, i zaburzenia czynności błon śluzowych). Z tego względu istnieje szereg obstrzeżeń w stosowaniu tej terapii oraz konieczność konsultacji ginekologicznych i internistycznych przy włączeniu leczenia oraz wystąpieniu zaburzeń w próbach wątrobowych oraz panelu lipidowym⁴⁴.

Na szczególną uwagę zasługuje także zastosowanie w terapii leczenia estrogenami jako metoda przyczynowego hamowania zmian trądzikowych. Estrogeny hamują lokalne wydzielanie łożu (dzięki blokadzie receptorów androgenowych) oraz regulację ekspresji genów odpowiedzialną za produkcję łożu. Układowo wpływają na produkcję androgenów oraz białek wiążących hormony płciowe, co minimalizuje negatywny wpływ androgenów na powstawanie i nasilanie się zmian trądzikowych⁴⁴.

Oprócz farmakoterapii zaleca się także leczenie wspomagające⁴⁴.

3. Stosowanie środków ochrony osobistej a zmiany trądzikowe

3.1. Pandemia COVID-19

COVID-19 to choroba zakaźna wywołana przez koronawirus zespołu ostrej niewydolności oddechowej 2 (SARS-COV-2, ang. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). Ze względu na mutację wirusa, obecnie wyróżnia się warianty alfa, beta, gamma, delta oraz omicron⁵¹. Zakaźność poszczególnych wariantów, wywoływane przez nie objawy a także skuteczność szczepień ochronnych skierowanych przeciw SARS-COV-2 jest różna dla poszczególnych wariantów. Wirus przenoszony jest drogą wziewną, przede wszystkim drogą kropelkową. Materiał zakaźny stanowi wydzielina dróg oddechowych, chociaż obecność wirusa SARS-COV-2 wykazano również w kale, moczu, łzach, nasieniu, a w początkowym okresie choroby również we krwi chorych⁵².

Do głównych objawów COVID-19 należą gorączka, katar, zmęczenie oraz utrata smaku i węchu. Poza tym chorobie mogą towarzyszyć ból gardła, ból głowy, bóle kostno-stawowe, biegunka, wysypka, przebarwienia palców, a także zaczerwienienie i podrażnienie oczu. W przypadku poważnego przebiegu, chorobie może towarzyszyć duszność, zaburzenia oddychania, utrata mowy oraz zdolności poruszania się czy bóle w klatce piersiowej⁵².

Zagrożenie epidemiologiczne, wywołane gwałtownym rozprzestrzenianiem się wirusa SARS-COV-2 na świecie, zaowocowało wprowadzeniem wielu

środków prewencyjnych, mających na celu zmniejszenie zachorowalności oraz spowolnienie transmisji COVID-19. Zalecenia Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) obejmują szczepienia ochronne, utrzymywanie dystansu społecznego, stosowanie dobrze dopasowanych masek w przypadku braku możliwości zachowania dystansu lub podczas przebywania w słabo wentylowanych pomieszczeniach, a także częstsze mycie i dezynfekcję rąk i zasłanianie ust i nosa w razie kaszlu czy kichania⁵³. Powyższe zalecenia miały odzwierciedlenie w stopniowo wprowadzanych obostrzeniach na terenie poszczególnych państw. Spośród wyżej wymienionych, na szczególną uwagę zasługuje wprowadzony obowiązek noszenia masek, którego wpływ na stan skóry został oceniony w licznych badaniach i związane z nim zjawisko trądziku, wywołanego przez maseczki.

3.2. Przegląd literatury

W badaniu przeprowadzonym na Wydziale Medycyny Uniwersytetu Khon Kaen w Tajlandii w 2020 roku, ocenie poddano wpływ noszenia różnych typów masek na skórę. W badanej populacji najczęściej korzystano z masek chirurgicznych (63,15%), masek materiałowych (35,05%), masek chirurgicznych w materiałowych osłonkach (1,0%) oraz masek N95 (0,72%). Spośród 833 badanych, zawodowo związanych bądź niezwiązanych z branżą medyczną, u 56% wystąpiły de novo zmiany skórne, powiązane bezpośrednio z noszeniem maseczek, z czego 39,9% uczestników doświadczyło trądziku. Zaobserwowano znaczące różnice, w zakresie wywoływanych zmian skórnych, pomiędzy poszczególnymi typami masek. Najmniejsze ryzyko działań niepożądanych było związane ze stosowaniem masek materiałowych, natomiast najwyższe towarzyszyło stosowaniu masek chirurgicznych. Pozostałe dwa typy badanych masek również zostały powiązane ze zwiększonym ryzykiem niepożądanych reakcji skórnych. Do czynników sprzyjających powstawaniu niepożądanych reakcji skórnych zaliczono noszenie masek przez więcej niż cztery godziny na dzień (więcej niż 4-8 godzin/dzień oraz powyżej 8 godzin/dzień), a także brak codziennej zmiany maski⁵⁴.

Również w 2020 roku, przeprowadzono badanie ankietowe wśród 700 pracowników szpitali trzeciego stopnia w prowincji Hubei w Chinach. Ankietę obejmowała pytania dotyczące poziomu uszkodzenia skóry oraz częstotliwości i czasu stosowania pełnych strojów ochronnych przez ankietowanych. Wśród 542 badanych uszkodzenie skóry pod wpływem stosowania środków ochrony osobistej zaobserwowano u aż 97,0% (526 z 542) pracowników szpitali.

Najczęściej zgłaszanym zaburzeniem stanu skóry było nadmierne jej przesuszenie (70,3% badanych), które jest jednym z czynników pobudzających łojotok, co może prowadzić do trądziku⁵⁵.

Analiza rozpowszechnienia objawów oraz niepożądanych reakcji skórnych na skutek stosowania środków ochrony osobistej w trakcie pandemii COVID-19 została również przeprowadzona przez R. Battista'e i wsp. na podstawie ankietowego badania internetowego przeprowadzonego wśród 381 osób. Grupa badana obejmowała pracowników ochrony zdrowia (48,56%), pracowników o wysokim poziomie kontaktów społecznych (0,08%) oraz pracowników o niskiej ekspozycji na kontakt społeczny (43,31%). W badaniu uwzględniono wpływ poszczególnych typów masek na stan skóry badanych. 27,6% badanych doświadczyło trądziku/poszerzenia porów, w tym wśród pracowników ochrony zdrowia trądziku doświadczyło 42,7% badanych, 32,3% badanych o dużej zawodowej ekspozycji na kontakty społeczne oraz 9,7% badanych o niskiej zawodowej ekspozycji, co wykazuje korelację z przeciętnym czasem stosowania PPE (środki ochrony indywidualnej) przez badanych. Wśród pracowników ochrony zdrowia, stosowanie PPE powyżej 6 godzin, zostało powiązane ze znacznym zwiększeniem występowania objawów oddechowych, skórnych, ocznych oraz objawów wywołanych pod wpływem ucisku. W powyższym badaniu nie wykazano jednak wpływu rodzaju stosowanych masek na nasilenie objawów skórnych⁵⁶.

Międzynarodowy zespół badawczy pod przewodnictwem S. Mushatq przeanalizował 101 przypadków powikłań stosowania środków ochrony osobistej podczas pandemii. Skoncentrowano się na bezpośrednich efektach stosowania środków ochrony osobistej. W badaniu uwzględniono rodzaj masek stosowanych przez jego uczestników, w postaci masek N95 (61,9%) masek chirurgicznych (14,3%), masek materiałowych (14,3%) oraz masek FFP2 (9,5%). Stosowanie masek było przyczyną niepożądanych reakcji skórnych u 20,8% badanych. Do najczęściej zgłaszanych objawów powiązanych z noszeniem masek zaliczono pieczenie oraz uczucie świądu. Skupiając się na objawach przedmiotowych, wśród badanych najczęściej występował rumień oraz pojawiające się zmiany grudkowe. W powyższym badaniu trądzik wystąpił u zaledwie 5% badanych, w tym jako nasilenie wcześniej wstępującego trądziku u 20% badanych manifestujących zmiany trądzikowe. Niski odsetek zmian trądzikowych w powyższym badaniu może wynikać z małej próby badanej⁵⁷.

W 2020 roku tajscy badacze przeprowadzili analizę problemu powikłań stosowania poszczególnych typów maseczek w trakcie pandemii COVID-19.

Przeprowadzili oni badanie ankietowe na grupie 1231 respondentów nie będącymi pracownikami ochrony zdrowia. Grupa badana składała się głównie z kobiet (73,8% badanych) i osób po 30 roku życia (72,1% badanych). Spośród badanych 52,3% stosowało maseczki z tkaniny, 44,8% stosowało maseczki chirurgiczne, a zaledwie 2,8% respondentów zastosowało maski N95. Ostatecznie 62,3% badanych zgłosiło występowanie powikłań stosowania maseczek. Odnotowano 1,594 następstwa noszenia maseczek u 62,3% respondentów, z czego najpopularniejszym było zaostrenie trądziku (32,2% ankietowanych zadeklarowało zaostrenie). Dokonano również analizy zależności, pomiędzy rodzajem noszonych masek a rodzajem występujących zaostreń. Spośród użytkowników masek materiałowych zaostrenie trądziku stanowiło 38,8% odnotowanych powikłań, wśród użytkowników masek chirurgicznych trądzik stanowił 45,7% zgłaszanych powikłań, a w przypadku masek N95 liczba ta stanowiła 34,3%. Przy analizie uzyskanych wyników należy mieć na uwadze fakt, że średni czas stosowania maseczek wśród badanych nie przekraczał 4h w ciągu dnia (53,8% badanych), co, biorąc pod uwagę wyniki innych badań, jest czynnikiem znacznie zmieniającym intensywność powikłań skórnych w wyniku stosowania maseczek⁵⁸.

Podczas pandemii COVID-19, koreańscy badacze skupili się na bezpośrednich zmianach parametrów fizjologicznych zachodzących w skórze podczas stosowania masek KF94 (koreański odpowiednik masek N95). Badanie przeprowadzono na grupie 20 ochotników, którzy używali maseczek przez 6 godzin dziennie przez okres 2 tygodni. Dokładnie przeanalizowano zmiany temperatury, barwę, wielkość porów, teksturę, elastyczność, utratę wody przez skórę, jej pH, oraz wydzielanie sebum, a także nasilenie zmian trądzikowych przed i po noszeniu maseczek. Podczas badania, pod wpływem noszenia maseczek, zaobserwowano znaczny wzrost temperatury skóry, jej wzmożone zaczerwienienie, a także odnotowano większą utratę wody oraz minimalny wzrost wydzielania sebum. Analizując skutki noszenia masek przez okres dwóch tygodni u badanych, zaobserwowano stopniowe zmniejszenie elastyczności skóry, powiększenie porów, a także wzmożenie nasilenia trądziku. Biorąc pod uwagę powyższe badanie, przeprowadzone na małej grupie badawczej, naukowcy stwierdzili, że dłuższe noszenie maseczek może mieć negatywny wpływ na skórę w tym na nasilenie zmian trądzikowych⁵⁹.

W 2020 roku badacze Brytyjskiego Towarzystwa Alergii Skórnych (ang. *The British Society for Cutaneous Allergy*) postanowili przeanalizować wpływ powszechnie stosowanych środków ochrony osobistej na stan skóry. Pod uwagę wzięto 337 pracowników ochrony zdrowia pracujących bezpośrednio z

pacjentami zakażonymi wirusem SARS-CoV-2. W badaniu wykazano, że 97% medyków manifestowało uszkodzenie skóry wywołane stosowaniem środków ochrony osobistej. Skupiając się na samych масечkach wykazano, iż stosowanie ich najczęściej prowadziło do atopowego wyprysku (u 40,6% badanych) oraz trądziku zwykłego i różowatego (16,6% badanych). W badaniu nie odnotowano znaczącej różnicy we wpływie poszczególnego rodzaju масек na stan skóry. Zwrócono jednak uwagę na to, że każdy rodzaj масек posiada właściwości okluzyjne oraz drażniące skórę. W wyniku takiego działania dochodzi do wzrostu temperatury skóry, wilgotności, pobudzenia wydzielania łoju oraz procesów zapalnych w skórze, co w następstwie prowadzi do rozwoju zmian trądzikowych⁶⁰.

W badaniu przeprowadzonym przez studentów Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, a zaprezentowanym w trakcie konferencji International Medical Congress of Silesia (SIMC2021), dokonano analizy wpływu środków ochrony dróg oddechowych na skórę skłoną do trądziku. W analizie wzięto pod uwagę rodzaj używanych środków ochrony osobistej podczas pandemii, a także czasu i częstotliwości ich stosowania. Badanie przeprowadzono wśród populacji w przedziale wiekowym 18-29 lat. Przeanalizowano 1420 ankiet, z czego 1274 włączono do badania. Wykazano znaczny wzrost nasilenia zmian skórnych, zarówno wśród mężczyzn (51% badanych), jak i kobiet (79% badanych). Najczęściej obserwowano umiarkowane (53% mężczyzn i 48% kobiet z trądzikiem) oraz ciężkie (odpowiednio 34% mężczyzn i 47% kobiet) nasilenie zmian trądzikowych. Badacze wskazują, iż duża skala zaostrzeń koreluje z noszeniem масечек oraz nasila się wraz z częstszym i dłuższym ich stosowaniem (stosowanie масек powyżej 4 godzin w ciągu doby znacznie zwiększa ryzyko występowania zmian). Ponadto wykazano, że rodzaj stosowanych środków ochrony miał wpływ na częstotliwość występowania zaostrzeń. W przypadku масек materiałowych, wykonanych z naturalnych materiałów, występowało o 5% niższe ryzyko wystąpienia zaostrzeń w odniesieniu do populacji stosującej maski wykonane z tkanin syntetycznych. Natomiast w przypadku масечек chirurgicznych, mimo zastosowania materiałów syntetycznych, poziom zaostrzeń nie odbiegał od масек wykonanych z materiałów naturalnych (75% zaostrzeń wśród użytkowników). Skupiając się na pozostałych profesjonalnych maskach, KN95 oraz innych spełniających normę FFP2, nie wykazano znacznych odstępstw nasilenia zaostrzeń od tych, wywołanych przez масечки chirurgiczne i materiałowe, wykonane z naturalnych materiałów⁶¹.

W 2021 roku przeprowadzono metaanalizę, mającą na celu podsumowanie

aktualnej wiedzy na temat rozpowszechnienia, negatywnych skutków oraz czynników ryzyka niepożądanych reakcji skórnych, wywołanych stosowaniem środków ochrony osobistej. Analiza objęła łącznie 35 publikacji, reprezentujących dane zebrane pośród 31 tysięcy uczestników tychże badań, w tym 7 publikacji bezpośrednio dotyczyło niepożądanych skutków stosowania środków ochrony osobistej na skórę. Wykazano, iż 75,13% badanych manifestowało powikłania po stosowaniu środków ochrony osobistej, z czego 57,71% manifestowało zmiany skórne w bezpośrednim efekcie stosowania masek ochronnych. Najczęściej występujące zdarzenia niepożądane obejmowały kontaktowe zapalenie skóry, trądzik oraz egzemę. Wśród najczęściej występujących objawów pojawiły się pieczenie oraz swędzenie, a także zmiany rumieniowe oraz grudkowe. Najczęściej opisywanym czynnikiem ryzyka wystąpienia niepożądanych reakcji skórnych, w tym trądziku, był dłuższy czas ich stosowania. Poza tym, na wystąpienie skórnych działań niepożądanych dodatkowy wpływ miała płeć żeńska, brak stosowania środków nawilżających, wcześniejsze epizody zapalenia skóry w historii choroby oraz stosowanie masek N95, w porównaniu ze stosowaniem maseczek chirurgicznych. Jednakże z większości doniesień⁶²⁻⁶⁴ wynika, że właśnie stosowanie masek chirurgicznych w porównaniu z pozostałymi rodzajami wiąże się z większym ryzykiem wystąpienia niepożądanych reakcji skórnych⁶⁵.

4. Dyskusja

Bezpośredni związek, między zakrywaniem twarzy a nasileniem zmian, ma najprawdopodobniej źródło w bezpośrednim podrażnianiu skóry przez środki ochrony osobistej. Skóra w odpowiedzi na bodźce drażniące, takie jak tarcie, ucisk, wzrost temperatury i wilgotności, wywołane przez noszenie maseczek, zwiększa wydzielanie łoju w celach ochronnych. Pod wpływem noszenia maseczek powstają również warunki sprzyjające rozwojowi *C. acnes* w gruczołach łojowych, które to wywołują i nasilają stan zapalny, prowadzący do zwiększenia łojotoku i zaburzenia rogowacenia, a tym samym nasilenia lub powstania de novo zmian trądzikowych⁴⁴.

Na wystąpienie trądziku bądź zaostrenie już istniejących zmian trądzikowych podczas stosowania maseczek mają wpływ takie czynniki jak: rodzaj stosowanej maseczki, czas jej noszenia oraz częstotliwość zmiany maseczki, a także płeć czy stosowanie środków nawilżających skórę. W większości badań wykazano, że stosowanie masek chirurgicznych wiąże się z największym ryzykiem wystąpienia niepożądanych reakcji skórnych, w tym trądziku, w

odróżnieniu od masek materiałowych, przy których stosowaniu nasilenie zmian trądzikowych było najmniejsze. Dodatkowo, do rozwoju niepożądanych reakcji skórnych premiował dłuższy czas noszenia masek (już powyżej 4 godzin/dobę) oraz brak codziennej zmiany maski.

Ze względu na wieloczynnikowość choroby, jaką jest trądzik pospolity, nie można pominąć innych czynników, które mogły mieć wpływ na rozpowszechnienie oraz nasilenie trądziku obserwowane u badanych podczas pandemii COVID-19. Podczas pandemii odnotowano znacznie częściej występujące zaburzenia dietetyczne, w połączeniu ze zmniejszoną aktywnością fizyczną w ogólnej populacji, co przełożyło się na wzrost BMI⁶⁶. Zmiany hormonalne, wynikające z nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej w organizmie i jej roli w syntezie hormonów steroidowych, posiadają dobrze udokumentowany wpływ na dynamikę stanu zapalnego oraz rozwój trądziku. Zaburzona gospodarka hormonalna prowadzi do nasilonego wzrostu czynności gruczołów łojowych, co premiuje dominację serotypów *C. acnes* odpowiedzialnych za nasilenie zmian trądzikowych⁶⁷.

W pracy uwzględniono badania przeprowadzone w wielu krajach, w różnych latach a także w populacjach o różnej liczebności. Należy więc wziąć pod uwagę wynikające z tego stanu ograniczenia, między innymi małe grupy badawcze w części badań, zróżnicowany profil zawodowy ich uczestników (pracownicy ochrony zdrowia, osoby zawodowo nie związane z ochroną zdrowia), brak szczegółowych danych dotyczących stosowanych masek (dokładny materiał, specyfikacje produktów), które również mogły mieć wpływ na stan skóry badanych. Dodatkowo należy uwzględnić komponentę genetyczną (wykazano różną ekspresję genów odpowiedzialnych za powstawanie trądziku u poszczególnych grup etnicznych) a także kulturową (dieta, poziom higieny osobistej) oraz czynniki socjo-ekonomiczne oraz psychiczne, które mogły ulec znaczącej zmianie pod wpływem pandemii COVID-19 w poszczególnych krajach, a również mogą mieć wpływ na stan skóry.

Zwiększenie skali problemu trądziku pospolitego, a także innych niepożądanych reakcji skórnych pod wpływem stosowania środków ochrony osobistej stanowi wyzwanie zarówno dla pacjentów, jak i dla pracowników ochrony zdrowia. Obecna sytuacja być może przyczyni się do wzrostu zainteresowania świata naukowego problematyką trądziku pospolitego, jego etiopatogenezy oraz możliwych opcji terapeutycznych. Być może uda się odkryć: nowe leki biologiczne moderujące łojotok, terapie genowe minimalizujące ryzyko wystąpienia trądziku podczas okresu dorastania, terapie eradykujące niekorzystne

serotypy *Cutibacterium acnes* albo nowe leki niwelujące nieprawidłową keratynizację. Obiecujący jest także wzrost wiedzy na temat diety i wpływu poszczególnych rodzajów produktów spożywczych na system immunologiczny oraz moderację procesów zachodzących w organizmie, co może w przeciągu najbliższych lat opracować kompletną dietę, albo zbiór zaleceń dietetycznych pozwalających na znaczne zniwelowanie zmian trądzikowych.

Referencje

1. Jabłońska S.. *Choroby Skóry*. Wydaw. Lekarskie PZWL; 2001.
2. Singh M, Mehta A, Kaur M, Gupta P. Commentary: Cryotherapy and the sebaceous glands. *Indian J Ophthalmol*. 2022;70(2):633. doi:10.4103/ijo.ijo_2710_21
3. Bhate K, Williams H. Epidemiology of acne vulgaris. *British Journal of Dermatology*. 2013;168(3):474-485. doi:10.1111/bjd.12149
4. Aktualne zasady - Koronawirus: informacje i zalecenia - Portal Gov. pl. Koronawirus: informacje i zalecenia. <https://www.gov.pl/web/koronawirus/aktualne-zasady-i-ograniczenia>. Published 2022. Accessed February 3, 2022.
5. Violant-Holz V, Gallego-Jiménez M, González-González C et al. Psychological Health and Physical Activity Levels during the COVID-19 Pandemic: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(24):9419. doi:10.3390/ijerph17249419
6. Rademaker M, Garioch J, Simpson N. Acne in schoolchildren: no longer a concern for dermatologists. *BMJ*. 1989;298(6682):1217-1219. doi:10.1136/bmj.298.6682.1217
7. Law M, Chuh A, Lee A, Molinari N. Acne prevalence and beyond: acne disability and its predictive factors among Chinese late adolescents in Hong Kong. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35(1):16-21. doi:10.1111/j.1365-2230.2009.03340.x
8. Yahya H. Acne vulgaris in Nigerian adolescents - prevalence, severity, beliefs, perceptions, and practices. *Int J Dermatol*. 2009;48(5):498-505. doi:10.1111/j.1365-4632.2009.03922.x

9. Wolkenstein P, Grob J, Bastuji-Garin S, Ruszczynski S, Roujeau J, Revuz J. French People and Skin Diseases. *Arch Dermatol.* 2003;139(12). doi:10.1001/archderm.139.12.1614
10. Williams H, Dellavalle R, Garner S. Acne vulgaris. *The Lancet.* 2012;379(9813):361-372. doi:10.1016/s0140-6736(11)60321-8
11. Schafer T, Nienhaus A, Vieluf D, Berger J, Ring J. Epidemiology of acne in the general population: the risk of smoking. *British Journal of Dermatology.* 2001;145(1):100-104. doi:10.1046/j.1365-2133.2001.04290.x
12. Cunliffe W, Gould D. Prevalence of facial acne vulgaris in late adolescence and in adults. *BMJ.* 1979;1(6171):1109-1110. doi:10.1136/bmj.1.6171.1109
13. Ballanger F, Baudry P, N'Guyen J, Khammari A, Dréno B. Heredity: A Prognostic Factor for Acne. *Dermatology.* 2006;212(2):145-149. doi:10.1159/000090655
14. Wang F, Kwak H, Elbuluk N et al. Retinoic acid 4-hydroxylase inducibility and clinical response to isotretinoin in patients with acne. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(2):252-258. doi:10.1016/j.jaad.2009.03.013
15. Zahra Ghodsi S, Orawa H, Zouboulis C. Prevalence, Severity, and Severity Risk Factors of Acne in High School Pupils: A Community-Based Study. *Journal of Investigative Dermatology.* 2009;129(9):2136-2141. doi:10.1038/jid.2009.47
16. Bataille V, Snieder H, MacGregor A, Sasieni P, Spector T. The Influence of Genetics and Environmental Factors in the Pathogenesis of Acne: A Twin Study of Acne in Women. *Journal of Investigative Dermatology.* 2002;119(6):1317-1322. doi:10.1046/j.1523-1747.2002.19621.x
17. Xu S, Wang H, Fan X et al. The familial risk of acne vulgaris in Chinese Hans ? a case-control study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2007;0(0):070206173308014-???. doi:10.1111/j.1468-3083.2006.02022.x
18. Evans D, Kirk K, Nyholt D, Novac C, Martin N. Teenage acne is influenced by genetic factors. *British Journal of Dermatology.* 2005;152(3):579-581. doi:10.1111/j.1365-2133.2005.06387.x

19. Wei B, Pang Y, Zhu H et al. The epidemiology of adolescent acne in North East China. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2010;24(8):953-957. doi:10.1111/j.1468-3083.2010.03590.x
20. Do J, Cho S, In S, Lim K, Lee S, Lee E. Psychosocial Aspects of Acne Vulgaris: A Community-based Study with Korean Adolescents. *Ann Dermatol*. 2009;21(2):125. doi:10.5021/ad.2009.21.2.125
21. Podyplomie.pl. <https://podyplomie.pl/publish/system/articles/pdf/articles/000/012/258/original/33-39.pdf?1473166342>. Published 2022. Accessed February 3, 2022.
22. Makrantonaki E, Ganceviciene R, Zouboulis C. An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne. *Dermatoendocrinol*. 2011;3(1):41-49. doi:10.4161/derm.3.1.13900
23. Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2018;32:5-14. doi:10.1111/jdv.15043
24. Fraison E, Kostova E, Moran L et al. Metformin versus the combined oral contraceptive pill for hirsutism, acne, and menstrual pattern in polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020;2020(8). doi:10.1002/14651858.cd005552.pub3
25. Goh W, Kallianpur K, Chow D et al. Chocolate and acne: How valid was the original study?. *Clin Dermatol*. 2011;29(4):459-460. doi:10.1016/j.clindermatol.2011.05.002
26. Spencer E, Ferdowsian H, Barnard N. Diet and acne: a review of the evidence. *Int J Dermatol*. 2009;48(4):339-347. doi:10.1111/j.1365-4632.2009.04002.x
27. Thiboutot D, Strauss J. Diet and Acne Revisited. *Arch Dermatol*. 2002;138(12). doi:10.1001/archderm.138.12.1591
28. Abulnaja K. Changes in the hormone and lipid profile of obese adolescent Saudi females with acne vulgaris. *Brazilian Journal of*

- Medical and Biological Research*. 2009;42(6):501-505. doi:10.1590/s0100-879x2009000600005
29. Klaz I, Kochba I, Shohat T, Zarka S, Brenner S. Severe Acne Vulgaris and Tobacco Smoking in Young Men. *Journal of Investigative Dermatology*. 2006;126(8):1749-1752. doi:10.1038/sj.jid.5700326
30. Ehrmann D. Polycystic Ovary Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2005;352(12):1223-1236. doi:10.1056/nejmra041536
31. Chen M, Chen C, Yang J et al. High serum dehydroepiandrosterone sulfate is associated with phenotypic acne and a reduced risk of abdominal obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*. 2010;26(1):227-234. doi:10.1093/humrep/deq308
32. Plewig G. Pomade acne. *Arch Dermatol*. 1970;101(5):580-584. doi:10.1001/archderm.101.5.580
33. Valeyrie-Allanore L, Sassolas B, Roujeau J. Drug-Induced Skin, Nail and Hair Disorders. *Drug Saf*. 2007;30(11):1011-1030. doi:10.2165/00002018-200730110-00003
34. Tucker S. Occupational tropical acne. *Cutis*. 1983;79-81.
35. Green J, Sinclair R. RESEARCH REPORT Perceptions of acne vulgaris in final year medical student written examination answers. *Australasian Journal of Dermatology*. 2001;42(2):98-101. doi:10.1046/j.1440-0960.2001.00489.x
36. Magin P. A systematic review of the evidence for 'myths and misconceptions' in acne management: diet, face-washing and sunlight. *Fam Pract*. 2004;22(1):62-70. doi:10.1093/fampra/cmh715
37. Bergler-Czop B, Bilewicz-Stebel M, Stańkowska A. Trądzik populary – najczęstsza dermatologia osób młodych. <https://www.wiadoscidermatologiczne.pl/artykul/tradziki-populary-najczestsza-dermatologia-osob-mlodych>. Published 2022. Accessed May 3, 2022.
38. Heng A, Say Y, Sio Y, Ng Y, Chew F. Gene variants associated with acne vulgaris presentation and severity: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med Genomics*. 2021;14(1). doi:10.1186/

s12920-021-00953-8

39. Perry A, Lambert P. Propionibacterium acnes. *Lett Appl Microbiol.* 2006;42(3):185-188. doi:10.1111/j.1472-765x.2006.01866.x
40. Dreno B, Gollnick H, Kang S et al. Understanding innate immunity and inflammation in acne: implications for management. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2015;29:3-11. doi:10.1111/jdv.13190
41. Kim J. Review of the Innate Immune Response in Acne vulgaris: Activation of Toll-Like Receptor 2 in Acne Triggers Inflammatory Cytokine Responses. *Dermatology.* 2005;211(3):193-198. doi:10.1159/000087011
42. Mills O. Acne Mechanica. *Arch Dermatol.* 1975;111(4):481. doi:10.1001/archderm.1975.01630160071007
43. Szepietowski J, Kapińska-Mrowiecka M, Kaszuba A et al. Letter to the Editor Stanowisko grupy eksperckiej Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego w sprawie konsensusu „Trądzik zwyczajny: patogeniza i leczenie”. *Dermatology Review.* 2014;1:73-73. doi:10.5114/dr.2014.41075
44. Nast A, Dréno B, Bettoli V et al. European Evidence-based (S3) Guidelines for the Treatment of Acne. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2012;26:1-29. doi:10.1111/j.1468-3083.2011.04374.x
45. Thiboutot D, Gollnick H, Bettoli V et al. New insights into the management of acne: An update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne Group. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60(5):S1-S50. doi:10.1016/j.jaad.2009.01.019
46. Rigopoulos D, Larios G, Katsambas A. The role of isotretinoin in acne therapy: why not as first-line therapy? facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2010;28(1):24-30. doi:10.1016/j.clindermatol.2009.03.005
47. Kaszuba A, Kisiel K, Uczniak S. Izotretinoina doustna w leczeniu różnych odmian klinicznych trądziku pospolitego. *Journals.viamedica.pl.* https://journals.viamedica.pl/forum_medycyny_rodzinnej/

- article/view/10138. Published 2022. Accessed January 3, 2022.
48. Cunliffe W, Stables G. Optimum Use of Isotretinoin in Acne. *J Cutan Med Surg.* 1996;1(2_suppl):S2-14-S2-25. doi:10.1177/12034754960010s205
49. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>. Published 2022. Accessed March 3, 2022.
50. koronawirusowe Z. COVID-19. Mp.pl. <https://www.mp.pl/internal/chapter/B16.II.18.1.13>. Published 2022. Accessed March 3, 2022.
51. Coronavirus. Who.int. https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_3. Published 2022. Accessed May 3, 2022.
52. Coronavirus. Who.int. https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_2. Published 2022. Accessed May 3, 2022.
53. Techasatian L, Lebsing S, Uppala R et al. The Effects of the Face Mask on the Skin Underneath: A Prospective Survey During the COVID-19 Pandemic. *Journal of Primary Care & Community Health.* 2020;11:215013272096616. doi:10.1177/2150132720966167
54. Lan J, Song Z, Miao X et al. Skin damage among health care workers managing coronavirus disease-2019. *J Am Acad Dermatol.* 2020;82(5):1215-1216. doi:10.1016/j.jaad.2020.03.014
55. Battista R, Ferraro M, Piccioni L, Malzanni G, Bussi M. Personal Protective Equipment (PPE) in COVID 19 Pandemic. *Journal of Occupational & Environmental Medicine.* 2020;63(2):e80-e85. doi:10.1097/jom.0000000000002100
56. Mushtaq S, Terzi E, Recalcatti S, Salas-Alanis J, Amin S, Faizi N. Cutaneous adverse effects due to personal protective measures during COVID-19 pandemic: a study of 101 patients. *Int J Dermatol.* 2020;60(3):327-331. doi:10.1111/ijd.15354
57. Chaiyabutr C, Sukakul T, Pruksaeakanan C, Thumrongtharadol J, Boonchai W. Adverse skin reactions following different types of mask usage during the COVID-19 pandemic. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2020;35(3). doi:10.1111/jdv.17039
58. Kim J, Yoo S, Kwon O, Jeong E, Lim J, Park S. Influence of quarantine mask use on skin characteristics: One of the changes in our life

- caused by the COVID-19 pandemic. *Skin Research and Technology*. 2020;27(4):599-606. doi:10.1111/srt.12992
59. O'Neill H, Narang I, Buckley D et al. Occupational dermatoses during the COVID-19 pandemic: a multicentre audit in the UK and Ireland. *British Journal of Dermatology*. 2020;184(3):575-577. doi:10.1111/bjd.19632
60. Anczyk S, Stępień M, Raczyński M, Woźniakowska M. Influence of the usage of respiratory protection measures on the condition of acne-prone skin. In: *Medical Congress Of Silesiasimc2021*. Katowice; 2021.
61. Techasatian L, Lebsing S, Uppala R et al. The Effects of the Face Mask on the Skin Underneath: A Prospective Survey During the COVID-19 Pandemic. *Journal of Primary Care & Community Health*. 2020;11:215013272096616. doi:10.1177/2150132720966167
62. Matusiak Ł, Szepietowska M, Krajewski P, Białynicki-Birula R, Szepietowski J. Inconveniences due to the use of face masks during the COVID-19 pandemic: A survey study of 876 young people. *Dermatol Ther*. 2020;33(4). doi:10.1111/dth.13567
63. Chaiyabutr C, Sukakul T, Pruksaeakanan C, Thumrongtharadol J, Boonchai W. Adverse skin reactions following different types of mask usage during the COVID-19 pandemic. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2020;35(3). doi:10.1111/jdv.17039
64. Montero-Vilchez T, Cuenca-Barrales C, Martinez-Lopez A, Molina-Leyva A, Arias-Santiago S. Skin adverse events related to personal protective equipment: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2021;35(10):1994-2006. doi:10.1111/jdv.17436
65. Piękoś-Lorenc I, Woźniak-Holecka J, Jaruga-Sękowska S. Otyłość, nadwaga i problemy psychiczne jako konsekwencje pandemii koronawirusa. 2022.
66. Dieta a łojotokowe zapalenie skóry. Mp.pl. https://www.mp.pl/pacjent/dieta/diety/diety_w_chorobach/264397,dieta-a-lojotokowe-zapalenie-skory. Published 2022. Accessed February 3, 2022.

INNOWACJE I ODKRYCIA W ZAKRESIE PROFILAKTYKI I TERAPII HIV – SZANSA NA PRZEŁOM W WALCE Z WIRUSEM?

PATRYCJA PIŁAT¹, RAFAŁ KOŁODZIEJ², ZUZANNA KASIECZKA¹,
MAŁGORZATA DYGA¹, PAULINA EIZERMAN¹, GABRIELA SZPILA¹

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:

Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV) to patogen, który atakuje układ odpornościowy organizmu, czego następstwem jest znaczne ryzyko rozwoju infekcji oportunistycznych oraz nowotworów. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), na całym świecie pod koniec 2020 roku żyło około 37 700 000 osób zakażonych HIV, z czego około 1,5 miliona stanowią przypadki, w których do transmisji doszło tego roku. Szacuje się, że z przyczyn związanych z HIV w 2020 roku zmarło około 680 000 osób. Złotym standardem postępowania w przypadku zakażenia HIV jest wdrożenie terapii antyretrowirusowej (ART), która pozwala na znaczne obniżenie wirulencji i ograniczanie objawów zespołu nabytego niedoboru odporności (AIDS). Odpowiednio przeprowadzana ART zapobiega również transmisji wirusa i znacząco poprawia standard życia osób chorych. Dostępne obecnie leki są udoskonalane poprzez m.in. wydłużanie czasu ich działania tak jak się to udało z kobotagrawirem. W przypadku epidemiologii zakażeń HIV istotną rolę odgrywa profilaktyka przed- i poekspozycyjna. Wymienione metody nie pozwalają na całkowitą eliminację wirusa z organizmu oraz prewencję, jaką w przypadku innych chorób stanowią szczepienia, a ich stosowanie obarczone jest licznymi ograniczeniami. Poszukiwanie nowego sposobu postępowania stanowi wyzwanie dla współczesnej medycyny. Celem poniższego artykułu jest przedstawienie najnowszych badań oraz innowacji w zakresie leczenia i prewencji wirusa HIV.

Słowa kluczowe: HIV, profilaktyka, terapia, innowacje, szczepienia

Abstract:

Human immunodeficiency virus (HIV) is a pathogen that attacks the body's immune system, resulting in a significant risk of developing opportunistic infections and cancer. According to the World Health Organization (WHO), there were approximately 37,700,000 people living with HIV worldwide at the end of 2020, of which approximately 1.5 million are cases in which transmission occurred that year. An estimated 680 000 people died from HIV-related causes in 2020. The gold standard for the management of HIV infection is the implementation of antiretroviral therapy (ART), which allows to significantly reduce virulence and limit the symptoms of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Properly conducted ART also prevents the

transmission of the virus and significantly improves the standard of living of people with the disease. Currently available drugs are udoxonalised by, among other things, prolonging their duration of action as has been achieved with cabotahravir. In the case of the epidemiology of HIV infection, pre- and post-exposure prophylaxis play an important role. The mentioned methods do not allow for complete elimination of the virus from the organism and prevention, which in the case of other diseases means vaccination, and their use is burdened with many limitations. The search for a new way of treatment is a challenge for modern medicine. The aim of this article is to present the latest research and innovations in the field of HIV treatment and prevention.

Keywords: HIV, prevention, therapy, innovation, vaccination

1. Wstęp

Ewolucja badań nad HIV (ludzki wirus upośledzenia odporności, ang. *Human Immunodeficiency Virus*) rozpoczęła się od momentu skojarzenia wirusa z chorobą AIDS (zespół nabytego niedoboru odporności, ang. *acquired immunodeficiency syndrome* lub *acquired immune deficiency syndrome*). Następnie parę lat zajęło naukowcom testowanie i analizowanie genomu wirusa. Badania rozwinęły się do etapu, w którym potrafimy ocenić ilość wirusa we krwi, znamy sposób jego replikacji, oraz odpowiedź organizmu na infekcję. Dzięki nieustannym doświadczeniom opracowane zostały leki antyretrowirusowe, które spowolniły znacząco rozwój ludzkiego wirusa upośledzenia odporności. Na jakim stopniu zaawansowania w walce z HIV jesteśmy teraz? Co jest lub będzie testowane w celach eliminacji patogenu z organizmu? Postaramy się przedstawić aktualne informacje, zgodne z wiedzą zdobytą po przeanalizowaniu artykułów i badań naukowych poświęconych temu tematowi^{1,2,3}.

Wyróżnia się dwa typy ludzkiego wirusa upośledzenia odporności: HIV typu 1 (HIV-1) i HIV typu 2 (HIV-2). Głównym czynnikiem wywołującym AIDS jest HIV-1, natomiast HIV-2 występuje głównie w regionach Afryki Zachodniej i Środkowej i jest mniej patogenny¹. HIV jest genetycznie spokrewniony z Lentiwirusami z rodziny Retroviridae. Zakażenia lentiwirusami charakteryzują się przewlekłym przebiegiem choroby, długim okresem klinicznej latencji, ciągłą replikacją wirusa i zajęciem ośrodkowego układu nerwowego. Genom retrowirusa składa się z dwóch identycznych kopii jednoniciowych cząsteczek RNA i charakteryzuje się obecnością strukturalnych genów gag, pol, env. Zawierają one informacje potrzebne do wytworzenia białek strukturalnych i enzymatycznych dla nowych cząstek wirusa. Wirusy HIV-1 i HIV-2 różnią się od siebie pod względem organizacji genomu, chociaż podstawowa struktura jest taka sama jak u wszystkich retrowirusów. W rzeczywistości, oprócz wcześniej wspomnianych trzech genów, genomy HIV-1 i HIV-2 zawierają złożoną kombinację innych genów pomocniczych². Systematyczna

analiza genomu wirusów powstających w zainfekowanym organizmie pozwoliła podzielić występujące w nim mutacje na dwa podstawowe typy: punktowe oraz rearanżacje cząsteczek genomowych³. Mutacje punktowe zachodzą w trakcie i po zakończeniu replikacji genomu, a szacunkowe dane wskazują, że podczas jednego dnia w organizmie chorego powstaje ich około 10^4 - 10^5 . Wspomniane rearanżacje cząsteczek genomowych są głównie produktem rekombinacji RNA^{4,5}. Postępowanie z pacjentami zakażonymi HIV nadal jest ogromnym wyzwaniem dla zdrowia publicznego na całym świecie, m.in. ze względu na wysoką umieralność — do tej pory zmarło na niego około 36,3 mln ludzi. Szacuje się, że pod koniec 2020 r. z zakażeniem HIV żyło około 37,7 mln osób, z czego ponad dwie trzecie (25,4 mln) należy do regionu afrykańskiego Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*). W 2020 r. około 680 000 osób zmarło z przyczyn związanych z HIV, a około 1,5 mln osób zostało zarażonych wirusem HIV⁶. Hiv poza zaburzeniami odporności w znaczący sposób wpływa też na zdrowie psychiczne. W badaniu przeprowadzonym przez polskich lekarzy wyniki wskazywały jednoznacznie na korelację zaburzeń psychicznych, behawioralnych i emocjonalnych u dzieci i młodzieży z wrodzonym zakażeniem HIV. Najczęściej stwierdzano u nich zaburzenia lękowe i zaburzenia afektywne⁷. Innymi istotnymi problemami, z którym mierzą się na co dzień osoby żyjące z HIV, jest stygmatyzacja i wykluczenie społeczne, stres psychospołeczny, poczucie presji, przemocy, często również utrata pracy. Czynniki te w znaczący sposób wpływają na jakość życia jak również zdrowie osób zakażonych wirusem ludzkiego niedoboru odporności. Wśród osób zakażonych HIV grupy tj. homoseksualiści, osoby transpłciowe, osoby świadczące lub korzystające z usług seksualnych, osoby zażywające narkotyki, znajdują się na skrzyżowaniu stygmatyzacji związanej z HIV i uprzedzeń dotyczących ich tożsamości, zawodów lub zachowań, co często pogłębia ich poczucie dyskryminacji⁸. Największym wyzwaniem, z jakim borykają się osoby zakażone HIV, są jednak choroby współtowarzyszące zakażeniu, w szczególności nowotwory (rak szyjki macicy, mięsak Kaposiego, chłoniak nieziarniczy), zakażenia bakteryjne (gruźlica, zapalenia płuc nawracające), wirusowe (zapalenie siatkówki, zakażenie wirusem cytomegalii, opryszczka), pasożytnicze (toksoplazmoza mózgu, kryptosporydioza), grzybicze (pneumocystozowe zapalenie płuc, kandydozy)⁹. Biorąc pod uwagę skalę problemu i wysoką śmiertelność naukowcy poszukiwali metod leczenia osób zakażonych HIV i obecnie stosuje się terapię antyretrowirusową (ART, ang. *antiretroviral therapy*), która znacznie zmniejszyła śmiertelność związaną z infekcją HIV, spadła również częstość występowania AIDS i liczba hospitalizacji

związanych z przyczyn powiązanych. Doprowadziło to do ogólnej poprawy średniej długości życia w populacji pacjentów z HIV. W starzejącej się populacji zakażonej HIV, pomimo spowolnienia replikacji wirusa, pojawiły się powikłania sercowo-naczyniowe, dysfunkcja układu odpornościowego, przewlekłe stany zapalne, toksyczność i skutki uboczne ART¹⁰. Skutki uboczne terapii HIV są częste i mogą mieć wpływ na rokowanie. Wśród działań niepożądanych można wyróżnić reakcje alergiczne (głównie skórne), zespół lipodystrofii, zespół rekonstrukcji immunologicznej i związane z nimi następstwa¹¹. Dlatego poszukiwane są bezpieczniejsze metody terapii, jak również skuteczniejsza profilaktyka.

2. Terapie prowadzone obecnie

Wprowadzenie wysoce aktywnej terapii antyretrowirusowej (HAART, ang. *highly active antiretroviral therapy*) w 1996 roku znacznie zmodyfikowało ogólne wskaźniki przeżycia osób z HIV/AIDS¹². HAART jest schematem leczenia zazwyczaj obejmującym kombinację trzech lub więcej leków przeciwtretowirusowych. HAART można również nazwać terapią antyretrowirusową (wspomnianym ART) lub skojarzoną terapią antyretrowirusową (cART, ang. *combined antiretroviral therapy*)¹³. W Polsce do leczenia kwalifikowane są osoby przez lekarza specjalistę zgodnie z aktualnymi rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Naukowego AIDS¹⁴. Kluczową kwestią w HAART jest jednocześnie podawanie różnych leków, które hamują replikację wirusa za pomocą kilku mechanizmów, tak że jeżeli rozwój patogenu w organizmie z opornością na jeden czynnik nie zostaje zahamowany przez daną substancję czynną, to pozostałe działają skutecznie na innych etapach jego rozmnażania. Dostępne terapeutycznie leki można podzielić na: inhibitory proteazy, nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy i nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy, inhibitory integrazy oraz inhibitory wejścia (tabela 1.)^{14,15,16}.

Kombinacja tych leków jest również dostępna dla niezainfekowanych pacjentów, którzy podejmują się zachowań wysokiego ryzyka i wykazano, że terapia zastosowana w profilaktyce przedekspozycyjnej, zmniejsza ryzyko zakażenia HIV o ponad 90%. Kierunek zmian w ostatnich latach jest nastawiony na coraz wcześniejsze rozpoczynanie leczenia, jednak nie wszystkim od razu wprowadza się ART. Wyróżnia się szczególne sytuacje kliniczne, które uprawniają do natychmiastowego rozpoczęcia terapii antyretrowirusowej i są to: ciąża, przewlekłe zapalenie wątroby typu B i/lub C, wiek powyżej 60 lat, nefropatia związana z zakażeniem HIV, ostra faza zakażenia HIV,

Tabela 1. Przedstawia zarejestrowane i aktualnie stosowane w Polsce leki antyretrowirusowe¹⁴

Nukleotz(t) ydowe inhibitory odwrotnej tran- skryptazy – NRTI (ang. <i>Nucleos(t) ide reverse transcriptase inhibitors</i>)	nienukle- ozydowe inhibitory odwrotnej transkrypta- zy – NNRTI (ang. <i>Non-Nucle- oside reverse transcriptase inhibitors</i>)	inhibitory proteazy – PI (ang. <i>Protease inhibitors</i>)	inhibitory fuzji – FI (ang. <i>Fusion inhibitors</i>)	inhibitory integrazy – InSTI (ang. <i>Integrase inhibitors</i>)	inhibitory korecepto- ra CCR-5 (ang. <i>CCR-5 inhibitors</i>)	inhibitory wiązania – AI (ang. <i>Attach- ment inhibitors</i>)	przeciwciała monoklo- nalne – MAB (ang. <i>Monoclonal antibodies</i>)
Abakawir, Emtrycyta- bina, Lamiwudyna, Dizoproksyl Tenofowiru, Alafenamid Tenofowiru. Azydoty- midyna/ zydowudyna	Efawirenz, Etrawiryna, Newirapina. Rylpiwiryna, Dorawiryna	Atazanawir, Darunawir, Lopinawir, Sakwina- wir	Enfuwirtyd	Raltegrawir (RAL) Elwitegra- wir (EVG) Dolutegra- wir (DTG) Biktegrawir (BIC) Kabotegra- wir	Marawirok	Fostemsawir	Ibalizumab

choroba wskazująca na AIDS. Celami HAART w szczególności u pacjentów zakażonych już HIV są zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności, poprawa jakości życia, zmniejszenie ilości wirusowego RNA w osoczu (w krótkim czasie maksymalne zmniejszenie wirerii), zapobieganie przenoszeniu na innych partnerów (seksualnych, używających tych samych igieł, z matki na niemowlę), zapobieganie lekooporności, poprawa funkcji układu odpornościowego (wyrażana przez zwiększenie liczby limfocytów CD4+)^{15,17,18}. Dostępne obecnie leki nie są jednak w stanie doprowadzić do całkowitej eradykacji HIV, ze względu na integrację genomu wirusa z naszym DNA. Niewykrywalne stężenie RNA HIV po wprowadzeniu terapii cART jest możliwe do uzyskania już po około 6 miesiącach. U wielu pacjentów w wyniku cART liczba limfocytów T CD4+ ulega zwiększeniu do wartości, przy których przestają być podatni na rozwój wielu zakażeń oportunistycznych. Jednak zdarzają się przypadki niewystarczającego zmniejszenia wirerii (okres diagnostyki po 4-8 tygodniach), wykrywania RNA HIV we krwi po 6 miesiącach leczenia, ponownego pojawienia się RNA HIV we krwi, postępu choroby pomimo terapii. Stosunkowo często pojawiają się również działania niepożądane przy stosowaniu cART, u 20-80% pacjentów zespół lipodystrofii (lipohipertrofia i/lub lipoatrofia), kwasica mleczanowa (powikłanie NRTI), u 30-90% oporność na insulinę, dyslipidemia

(PI, NRTI, NNRTI), hepatotoksyczność (zwłaszcza u pacjentów z HCV i/lub HBV), zaburzenia mineralizacji kości (NRTI) z układem kostnym, przewlekła choroba nerek, zespół rekonstrukcji immunologicznej^{18,19}.

3. Pacjenci wyleczeni z HIV

3.1. Pacjent berliński

Timothy Ray Brown znany jest jako „pacjent berliński” i jest uznawany za pierwszego pacjenta, który został całkowicie wyleczony z HIV. Terapie zaczął od przyjmowania małych dawek zydowudyny i inhibitorów proteazy. Terapia HAART u Timthy’ego składała się z 600 mg efawirenu, 200 mg emtrycytabiny i 300 mg tenofowiru dziennie. Jednakże przy zaostreniu AIDS, doszło do rozwoju ostrej białaczki szpikowej i musiała zostać wprowadzona chemioterapia^{20,21}. „Berliński pacjent” w celu leczenia nowotworu, otrzymał przeszczep z komórek macierzystych w 2007 roku, które były homozygotyczne dla delekcji $\Delta 32$ w allelu CCR5 (receptor C-C chemokin typu 5), co poskutkowało nieaktywnym produktem genu CCR5 i w konsekwencji brakiem receptora CCR5 na powierzchni komórki. Heterozygoza dla CCR5 $\Delta 32$ wiąże się z wolniejszą progresją choroby, a osoby homozygotyczne dla CCR5 $\Delta 32$ są naturalnie odporne na CCR5-tropowy wirus HIV (stanowią ok. 1% populacji). Wynika to z tego, że HIV-1 wnika do komórek gospodarza, wiążąc się z receptorem CD4, a następnie oddziałując z receptorem CCR5 lub CXC chemokiny (CXCR4, fuzyna). Przeprowadzono w tym przypadku pomyślny przeszczep allogenicznym komórek macierzystych homozygotycznych pod względem allelu $\Delta 32$ CCR5 pacjentowi z HIV. Chociaż przerwanie terapii przeciwwirusowej zazwyczaj prowadzi do szybkiego nawrotu zakażenia HIV w ciągu kilku tygodni, u tego pacjenta nie można było wykryć aktywnego, replikującego się wirusa HIV 20 miesięcy po odstawieniu HAART we krwi obwodowej, szpiku kostnym lub błonach śluzowych, co oceniono za pomocą testów RNA i pro-wirusowego DNA PCR. Dopóki miano wirusa będzie niewykrywalne, pacjent ten nie będzie wymagał leczenia przeciwwirusowego^{21,22}.

3.2. Pacjent londyński

Adam Castillejo, znany również jako „Londyński Pacjent”, jest drugą osobą, o której wiadomo, że została wyleczona z zakażenia wirusem HIV. U obu pacjentów leczenie obejmowało allogeniczny przeszczep hemopoetycznych

komórek macierzystych z mutacją w receptorze rdzeniowym CCR5 (CCR5 Δ 32). Londyński pacjent otrzymał przeszczep szpiku kostnego w celu leczenia raka — chłoniaka Hodgkina w 2016 roku. Podobnie jak w przypadku pacjenta z Berlina, u pacjenta z Londynu przerwana została ART i osiągnięto pełny chimeryzm dawcy, co oznacza, że zasadniczo 100% limfocytów we krwi obwodowej pochodziło od dawcy, a więc nie wykazano ekspresji CCR5. Doniesienie o pacjencie z Londynu i jego ponad osiemnastomiesięcznej remisji, wywołało ponowne zainteresowanie i nadzieję na wyleczenie pacjentów z HIV^{23,24}.

3.3. Pacjentka ze Stanów Zjednoczonych

Na konferencji na temat retrowirusów i zakażeń oportunistycznych w lutym 2022r. (CROI, ang. *Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*) potwierdzono skuteczność terapii polegającej na przeszczepie komórek macierzystych z krwi pępowinowej do człowieka zarażonego HIV z chorobą nowotworową. Precyzując, potwierdził się trzeci znany przypadek remisji wirusa HIV. Pacjentka z HIV rozpoczęła terapię w celu leczenia ostrej białaczki szpikowej. U kobiety od 14 miesięcy nie stwierdzono wykrywalnego wirusa HIV pomimo zaprzestania ART. Badanie, w ramach którego rozpoczęto leczenie w 2015 roku, było amerykańskim badaniem obserwacyjnym, zaprojektowanym w celu opisanie wyników 25 uczestników żyjących z HIV, którzy przeszli przeszczep komórek macierzystych z krwi pępowinowej CCR5 Δ 32/ Δ 32 w celu leczenia raka, choroby układu krwiotwórczego lub innej choroby podstawowej. Przeszczepiane komórki macierzyste w wyniku, w tym przypadku pożądanej, mutacji genetycznej CCR5 Δ 32/ Δ 32 w komórkach, nie wytwarzają koreceptorów CCR5, które wirus HIV wykorzystuje do infekcji komórek. Zabijając nowotworowe komórki odpornościowe za pomocą chemioterapii, a następnie przeszczepiając komórki macierzyste z mutacją genetyczną CCR5, naukowcy wysnuli teorię, że ludzie poddający się tej terapii, w następstwie rozwijają odporny na HIV układ odpornościowy²⁵.

Przeszczep szpiku kostnego jest niezwykle ryzykowny, dlatego też jest zarezerwowany dla osób z zagrażającymi życiu nowotworami krwi. We wczesnym okresie po przeszczepieniu, czyli w czasie pierwszych trzech miesięcy, tak zwane wczesne powikłania są w dużej mierze następstwem toksycznej chemioterapii i radioterapii, które w fazie kondycjonowania były zastosowane przed samym przeszczepieniem. Powikłania późne obejmują m.in. powikłania

infekcyjne, nieprawidłową pracę narządów, skutki nieprawidłowego leczenia, a także może pojawić się przewlekła choroba — przeszczep przeciwko gospodarzowi²⁶.

4. Strategia na latentne formy wirusa

Chociaż ART zatrzymuje replikację wirusa HIV, skupiając się na wielu etapach cyklu życiowego wirusa HIV, nie może pozbyć się ukrytego prowirusa wbudowanego w genom komórki gospodarza. Reaktywacja latencji wirusa HIV i zabijanie komórek nim zakażonych, tak zwane podejście „kopnij i zabij” lub „wskaż i zabij” (ang. „kick and kill” strategy), to popularna strategia leczenia HIV. Poza pamięcią spoczynkową CD4+ limfocytów T, rezerwuary HIV występują również w makrofagach tkankowych, komórkach szpiku, komórkach mikrogleju mózgu, komórkach nabłonka jelit i hematopoetycznych komórkach macierzystych. Pomimo braku aktywnej produkcji wirusa, osoby zakażone wirusem HIV nadal wykazują nieprawidłową sygnalizację komórkową i dysfunkcję metaboliczną. Naukowcy opracowali techniki wykorzystujące napakowane nanocząsteczkami leki ART, w tym omówiony poniżej system CRISPR-Cas9 (CRISPR, ang. *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* — skupisko regularnie rozmieszczonych krótkich powtórzeń palindromowych, Cas9, ang. *CRISPR associated protein 9* – białko pokrewne CRISPR 9), który może bezpośrednio atakować prowirusa i wyeliminować rezerwuary HIV²⁷.

5. Terapia LASER ART i CRISPR-Cas9 – model zwierzęcy

Podczas gdy większość badań nad eradykacją i leczeniem HIV koncentrowała się na ludziach, niedawne badanie potencjalnie wyeliminowało HIV-1 w podgrupie zakażonych humanizowanych myszy. W pracy wykorzystano ludzkie hematopoetyczne komórki macierzyste w celu wytworzenia ludzkich limfocytów T, które były podatne na zakażenie HIV-1. Myszom wszczepiono ludzkie hematopoetyczne komórki macierzyste wyizolowane z krwi pępowinowej i stwierdzono, że HIV-1 jest najwyższy w przedziałach limfoidalnych, z wyraźnym spadkiem w komórkach T CD4+ i wzrostem w komórkach T CD8+. Główną cechą tego badania było zastosowanie długo działającej, wolno uwalniającej się ART (LASER ART), która hamowała replikację wirusa poprzez hydrofobowe lipofilowe nanocząstki przeciwtretowirusowe, takie jak dolutegrawir, ryłpiwiryna, lamiwudyna i abakawir. Aby potwierdzić

eliminację terapeutyczną HIV-1 spowodowaną przez LASER ART i CRISPR/Cas9 (CRISPR/Cas9 to system stworzony do edycji genów, precyzyjnie wycina DNA, kontroluje proces naprawy DNA), podobny eksperyment przeprowadzono na kolejnej grupie myszy. Część myszy w obu projektach dalej była zakażona, część nie wykazywała objawów zakażenia, a u niektórych myszy nie wykryto RNA HIV-1. Potencjalne działanie terapeutyczne LASER i CRISPR/Cas9 jest testowane celem bezpośredniej edycji lub wycięcia zintegrowanego prowirusowego DNA z zakażonych komórek. Identyfikacja komórek związanych z latencją może posłużyć do opracowywania leków i szczepionek. Ta forma leczenia lub profilaktyki, jeżeli się powiedzie, będzie łatwa do wykonania i przystępna cenowo w krajach rozwijających się i rozwiniętych^{27,28,29}.

6. Szczepionki

Wiele prób i różnych podejść do stworzenia szczepionki przeciw HIV zostało już podjętych i tyle samo zakończyło się porażką. Paradoksalnie dzięki pandemii COVID-19 zostały dostrzeżone inne niż dotychczas podejmowane metody. Narodowy Instytut Alergii i Chorób Zakaźnych (ang. *National Institute of Allergy and Infectious Diseases*, NIAID), będący częścią Narodowego Instytutu Zdrowia (ang. *National Institutes of Health*, NIH) rozpoczął badanie HVTN 302 - kliniczne fazy 1 oceniające trzy eksperymentalne szczepionki przeciw HIV oparte na mRNA (ang. *messenger RNA*, informacyjny RNA, matrycowy RNA). Ta technologia została już wcześniej sprawdzona i zatwierdzona przez WHO w szczepionkach przeciw COVID-19. Anthony S. Fauci, dyrektor NIAID powiedział: „Dzięki sukcesowi bezpiecznych i wysoce skutecznych szczepionek przeciw COVID-19 mamy ekscytującą okazję, aby dowiedzieć się, czy technologia mRNA może osiągnąć podobne wyniki w przypadku zakażenia wirusem HIV”³⁰. Zamiast bezpośredniego dostarczania białek antygenowych, szczepionka mRNA wykorzystuje komórki gospodarza do translacji immunogenów, które z kolei są celem dla odpowiedzi przeciwciał i cytotoksycznych komórek. Szczepionki mRNA mają kilka zalet w porównaniu z dotychczas wykorzystywanymi szczepionkami, w tym zwiększone bezpieczeństwo, skuteczność oraz łatwość i szybkość wytwarzania³¹. Ze względu na rozwój przeciwciał neutralizujących, których zadaniem jest bezpośrednie unieszkodliwienie zakaźnej cząstki wirusa i jego biologiczna neutralizacja, skuteczna szczepionka przeciwko HIV będzie prawdopodobnie bardziej skomplikowana niż dotychczasowe. Przewidywana jest seria immunogenów opartych na Env. Env to wirusowy gen, który koduje białko tworzące otoczkę wirusa

a dokładniej, białko kolca (ang. *spike protein*), czyli glikoproteiny zlokalizowanej na powierzchni wirionu, która odgrywa zasadniczą rolę w przenoszeniu wirusa, promując przyczepność do powierzchni komórkowych poprzez rozpoznawanie określonych receptorów. Env dostarczone w postaci mRNA, będą wpływać na dojrzewanie linii komórek B i wytworzenia w ich centrach rozmnażania przeciwciał neutralizujących, poprzez sekwencyjną immunizację. Szczepionka wzbudzać będzie wiele linii przeciwciał neutralizujących, które celują w różne miejsca na glikoproteinie Env, a zatem będzie wymagać wielu serii różnych immunogenów^{32,33,34}. Badanie HVTN 302 ma na celu sprawdzenie, czy następujące trzy eksperymentalne szczepionki mRNA przeciwko HIV są bezpieczne i mogą wywołać odpowiedź immunologiczną:

1. mRNA BG505 MD39.3,
2. mRNA BG505 MD39.3 gp151,
3. mRNA BG505 MD39.3 gp151 CD4KO.

Każda ze szczepionek koduje inne, ale bardzo spokrewnione białka. W tym badaniu bierze udział 108 osób w wieku od 18 do 55 lat w 11 różnych ośrodkach. Badanie kliniczne ma zostać zakończone do lipca 2023 roku³¹.

7. Lek na HIV

Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, ang. *Food and Drug Administration*) ogłosiła w grudniu 2021 roku, pierwsze zatwierdzenie długo działającego leku na HIV. Kabotagrawir jest inhibitorem transferu nici integrazy drugiej generacji, charakteryzującym się stosunkowo wysoką barierą genetyczną i dobrą siłą przeciwretrowirusową. Lek ten został opracowany w postaci doustnej tabletki do codziennego podawania oraz jako długo działająca nanozawiesina do wstrzykiwań – podawany raz na dwa miesiące. FDA zatwierdziła lek do stosowania przez osoby dorosłe i młodzież ważącą co najmniej 35 kilogramów, które są narażone na ryzyko zakażenia HIV drogą płciową. Długo działające wstrzykiwane inhibitory enzymu HIV-1 są opracowywane w celu uniknięcia problemów związanych z przestrzeganiem zaleceń. W ostatnich badaniach klinicznych wykazano, że kabotegrawir, zapobiega nabywaniu wirusa HIV-1^{35,36}.

8. Podsumowanie

Przeanalizowaliśmy ponad 120 artykułów naukowych i badań opartych na ocenie skuteczności dostępnych i innowacyjnych terapii, korzystając ze źródeł znalezionych głównie w Pubmed, Google Scholar oraz National Library of Medicine. Naszymi kryteriami wyboru wśród 34 wybranych prac, były przede wszystkim: udział ludzi w badaniu, skuteczność terapii stosowanej, możliwe jak najnowsze wyniki prac naukowych. Podczas pisania monografii korzystaliśmy również m.in. z podręcznika chorób wewnętrznych — Interna Szczeklika i z Hematologia – Kompendium, żeby poszerzyć i połączyć informacje znane nam dotychczas. Krótco również pragniemy podsumować powyższe opracowanie.

Powszechne stosowanie skojarzonej terapii przeciwretrowirusowej skutecznie wydłużyło oczekiwaną długość życia pacjentów zakażonych wirusem HIV, znacząco zmniejszając zachorowalność i śmiertelność, a tym samym z powodzeniem przekształciło zakażenie wirusem HIV z choroby śmiertelnej w dającą się opanować chorobę przewlekłą. Strategia polegająca na podawaniu terapeutycznej szczepionki mRNA z lekami, które mogą reaktywować rezerwuar HIV (strategia „kopnij i zabij”), genetycznymi inaktywatorami genomów prowirusowych (CRISPR-Cas9), przeciwciałami neutralizującymi oraz wzmacnianiu odpowiedzi immunologicznej przeciw HIV, ma potencjał do znalezienia złotego środka w eliminacji ludzkiego wirusa niedoboru odporności.

Referencje

1. Fanales-Belasio, E., Raimondo, M., Suligoj, B. i Buttò, S. (2010). Wirusologia HIV i mechanizmy patogenetyczne infekcji: krótki przegląd. *Annali dell'Istituto superiore di sanita* , 46 , 5-14.
2. Kurzyńska-Kokorniak, A. Badania roli odwrotnej transkryptazy w generowaniu zmienności genetycznej wirusa HIV.
3. Pathak, V. K., & Hu, W. S. (1997). "Might as well jump!" Template switching by retroviral reverse transcriptase, defective genome formation, and recombination. In *Seminars in virology* (Vol. 8, No. 2, pp. 141-150). Academic Press.
4. Figlerowicz, M., Alejska, M., Kurzyńska-Kokorniak, A., & Figlerowicz, M. (2003). Genetic variability: The key problem in the

- prevention and therapy of RNA-based virus infections. *Medicinal research reviews*, 23(4), 488-518.
5. Kurzyńska-Kokorniak, A., Jaskólski, M., & Figlerowicz, M. (2002). Reverse transcriptase as the enzyme responsible for the genetic variability of human immunodeficiency virus (HIV). *Biotechnologia*, vol. 56, 1 (2002)-., 56(1), 24-34.
 6. World Health Organization (2021)
 7. Zielińska-Wieniawska, A., Bielecki, M., Wolańczyk, T., Coupland, U., Marczyńska, M., Srebnicki, T., & Bryńska, A. (2021). Zaburzenia psychiczne, behawioralne i emocjonalne u dzieci i młodzieży z wrodzonym zakażeniem HIV w Polsce. *Psychiatr. Pol.*, 55(6), 1387-1404.
 8. Friedland, B. A., Sprague, L., Nyblade, L., Baral, S. D., Pulerwitz, J., Gottert, A., Amanyeibe, U., Cheng, A., Mallouris, C., Anam, F., Jackson, A., & Geibel, S. (2018). Measuring intersecting stigma among key populations living with HIV: implementing the people living with HIV Stigma Index 2.0. *Journal of the International AIDS Society*, 21(Suppl 5).
 9. Kowalska, J. D., Oprea, C., De Witt, S., Pozniak, A., Gökengin, D., Youle, M., ... & Yurin, O. (2017). Euroguidelines in central and Eastern Europe (ECEE) conference and the Warsaw declaration—a comprehensive meeting report. *HIV medicine*, 18(5), 370-375.
 10. Abudan, A. A., Vaidya, V. R., Tripathi, B., Noseworthy, P. A., De-Simone, D. C., Egbe, A., ... & Deshmukh, A. J. (2021). Burden of arrhythmia in hospitalized HIV patients. *Clinical cardiology*, 44(1), 66-77.
 11. Esser, S., Helbig, D., Hillen, U., Dissemmond, J., & Grabbe, S. (2007). Side effects of HIV therapy. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 5(9), 745-754.
 12. Shmakova, A., Germini, D., & Vassetzky, Y. (2020). HIV-1, HAART and cancer: a complex relationship. *International Journal of Cancer*, 146(10), 2666-2679.
 13. Eggleton, J. S., & Nagalli, S. (2020). Highly active antiretroviral therapy (HAART).

14. Jabłonowska, E., Kowalska, J., Bociąga-Jasik, M., Mularska, E., & Witak-Jędra, M. (2021). Zakażenie SARS CoV-2 u osób żyjących z HIV.
15. El Moussaoui, M., Lambert, I., Maes, N., Sauvage, A. S., Fripiat, F., Meuris, C., ... & Darcis, G. (2020). Evolution of drug interactions with antiretroviral medication in people with HIV. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 7, No. 11, p. ofaa416). US: Oxford University Press.
16. Kurzyńska-Kokorniak, A. (2018), Badania roli odwrotnej transkryptazy w generowaniu zmienności genetycznej wirusa HIV.
17. Thompson, M. A., Aberg, J. A., Hoy, J. F., Telenti, A., Benson, C., Cahn, P., ... & Volberding, P. A. (2012). Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society–USA panel. *Jama*, 308(4), 387-402.
18. Gąsiorowski J., Knysz B., Gładysz A., (2014), z rozdz. Zespół nabytego niedoboru odporności (AIDS), *Interna Szczeklika: podręcznik chorób wewnętrznych, Medycyna Praktyczna*, s.2348-2360.
19. Donnell, D., Baeten, J. M., Kiarie, J., Thomas, K. K., Stevens, W., Cohen, C. R., ... & Partners in Prevention HSV/HIV Transmission Study Team. (2010). Heterosexual HIV-1 transmission after initiation of antiretroviral therapy: a prospective cohort analysis. *The Lancet*, 375(9731), 2092-2098.
20. Brown, T. R. (2015). I am the Berlin patient: a personal reflection. *AIDS research and human retroviruses*, 31(1), 2-3.
21. Hütter, G., Nowak, D., Mossner, M., Ganepola, S., Müßig, A., Allers, K., ... & Thiel, E. (2009). Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *New England Journal of Medicine*, 360(7), 692-698.
22. Symons, J., Vandekerckhove, L., Hütter, G., Wensing, A. M., van Ham, P. M., Deeks, S. G., & Nijhuis, M. (2014). Dependence on the CCR5 coreceptor for viral replication explains the lack of rebound of CXCR4-predicted HIV variants in the Berlin patient. *Clinical infectious diseases*, 59(4), 596-600.

23. Peterson, C. W., & Kiem, H. P. (2019). Lessons from London and Berlin: designing a scalable gene therapy approach for HIV cure. *Cell Stem Cell*, 24(5), 685-687.
24. Gupta, R. K., Peppas, D., Hill, A. L., Gálvez, C., Salgado, M., Pace, M., ... & Olavarria, E. (2020). Evidence for HIV-1 cure after CCR5Δ32/Δ32 allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation 30 months post analytical treatment interruption: a case report. *The Lancet HIV*, 7(5), e340-e347.
25. NIAID Director Anthony S. Fauci, M.D., and Carl W. Dieffenbach, Ph.D., director of NIAID's Division of AIDS, Researchers Document Third Known Case of HIV Remission Involving Stem Cell Transplant, National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), P1107 IMPAACT
26. Basak G. W., Dwilewicz-Trojaczek J., Jędrzejczak W. W., (2016), *Hematologia – Kompendium*. PZWL, ISBN: 9788320050233.
27. Khanal, S., Schank, M., El Gazzar, M., Moorman, J. P., & Yao, Z. Q. (2021). HIV-1 latency and viral reservoirs: Existing reversal approaches and potential technologies, targets, and pathways involved in HIV latency studies. *Cells*, 10(2), 475.
28. Jiang, F., & Doudna, J. A. (2017). CRISPR–Cas9 structures and mechanisms. *Annual review of biophysics*, 46, 505-529.
29. Kalidasan, V., & Theva Das, K. (2020). Lessons learned from failures and success stories of HIV breakthroughs: are we getting closer to an HIV cure?. *Frontiers in microbiology*, 11, 46.
30. NIH Launches Clinical Trial of Three mRNA HIV Vaccines, (2022), National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID).
31. Mu, Z., Haynes, B. F., & Cain, D. W. (2021). HIV mRNA vaccines—progress and future paths. *Vaccines*, 9(2), 134.
32. Seabright, G. E., Doores, K. J., Burton, D. R., & Crispin, M. (2019). Protein and glycan mimicry in HIV vaccine design. *Journal of molecular biology*, 431(12), 2223-2247.
33. Shaik, M. M., Peng, H., Lu, J., Rits-Volloch, S., Xu, C., Liao, M., & Chen, B. (2019). Structural basis of coreceptor recognition by HIV-1 envelope spike. *Nature*, 565(7739), 318-323.

34. Spinelli, M. A., Lynch, K. L., Yun, C., Glidden, D. V., Peluso, M. J., Henrich, T. J., ... & Brown, L. B. (2021). SARS-CoV-2 seroprevalence, and IgG concentration and pseudovirus neutralising antibody titres after infection, compared by HIV status: a matched case-control observational study. *The lancet HIV*, 8(6), e334-e341.
35. Trezza, C., Ford, S. L., Spreen, W., Pan, R., & Piscitelli, S. (2015). Formulation and pharmacology of long-acting cabotegravir. *Current opinion in HIV and AIDS*, 10(4), 239.
36. Canetti, D., & Spagnuolo, V. (2021). An evaluation of cabotegravir for HIV treatment and prevention. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 22(4), 403-414.

LEKI NOWEJ GENERACJI W TERAPII CYTOMEGALII

STANISŁAW ANCZYK¹, MARTYNA GIAŁBAS², KAROL KRYPEK³,
DARIA CHŁOSTA⁴, KAROLINA CECERKO⁴, HONORATA BUNIEWSKA⁴

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Dermatologii
Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach,

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

3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakologii w Zabrze,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach,

4. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Psychiatrii,
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny

Abstrakt: Ludzki cytomegalowirus (ang. *human cytomegalovirus*, HCMV; znany również jako ludzki herpeswirus 5) jest członkiem rodziny Betaherpesvirinae. Jak inne wirusy opryszczki, ustala latencję i trwa przez całe życie jednostki. Stanowi on jedną z najczęstszych zakażeń wirusowych podczas ciąży i przyczynę wad wrodzonych noworodków, a do zakażenia dochodzi w trakcie ciąży, porodu oraz w okresie poporodowym. Wyzwaniem również stanowi zapobieganie zakażeniom w przypadku pacjentów poddanych immunosupresyjnemu kondycjonowaniu przed wykonaniem zabiegu przeszczepu. Dotychczasowa farmakoterapia opierała się na podawaniu leków z grupy inhibitorów polimerazy DNA, głównie walgancyklowiru, jego czynnego metabolitu – gancyklowiru, fomiwirsenu oraz foskarnetu. Są to jednak leki o nieselektywnym mechanizmie działania, które wywierają szereg działań niepożądanych. W ostatnich latach zostały opracowane leki nowej generacji; maribawir i letermowir, które są lekami bardziej selektywnymi. Celem niniejszej pracy jest charakterystyka zakażeń wirusem cytomegalii, dotychczasowe leczenie oraz porównanie rokowań terapii w przypadku leków nowszej i starszej generacji.

Słowa kluczowe: CMV, cytomegalowirus, farmakoterapia, letermowir, maribawir

Abstract: Human cytomegalovirus (HCMV; also known as human herpesvirus 5) is a member of the Betaherpesvirinae family. Like other herpes viruses, it establishes latency and lasts for the lifespan of the individual. It is one of the most common viral infections during pregnancy and one of the most common cause of birth defects in the newborns. In most cases infection occurs during pregnancy, delivery and the postpartum period. Infection prevention is also a challenge for physicians to protect

patients undergoing immunosuppressive conditioning prior to transplant surgery. The treatment has been based on the administration of drugs from the group of DNA polymerase inhibitors, mainly valganciclovir, its active metabolite- ganciclovir, foscarnet and foscarnet. However, these are non-selective drugs that have a number of side effects. New generation drugs have been developed in recent years; maribavir and letermovir, which both have a selective mechanism of action. The aim of this study is to characterize cytomegalovirus infections, the treatment to date, and to compare the effectiveness of therapy in the case of newer and older generation drugs.

Keywords: CMV, cytomegalovirus, letermovir, maribavir, pharmacotherapy

1. Wstęp

1.1. Grupa herpeswirusów

Cytomegalowirus zaliczany jest do rodziny *Herpesviridae* z podrodziny *Betaherpesvirinae*¹. Do herpeswirusów można zakwalifikować wirusy posiadające odpowiednią dla tej rodziny architekturę wirionu^{2,3}. Morfologicznie różnią się od wszystkich innych wirusów. Posiadają liniowy, dwuniciowy genom DNA o wielkości 125–290 kbp, który znajduje się w kapsydzie icozaedrycznym T=16. Otoczony jest przez białkową powłokę, a następnie otoczkę lipidową, zawierającą białka związane z błoną^{4,5}.

Herpeswirusy ludzkie zostały podzielone na podstawie tropizmu tkankowego i podobieństwa sekwencji na trzy rodziny: alfa, beta i gamma⁶. Rodzina *Herpesviridae* charakteryzuje się wspólną cechą, jaką jest zdolność ustalania latencji w komórkach gospodarza. Oznacza to brak obecności zakaźnych cząstek wirusowych w komórce gospodarza, ale umożliwia ich produkcję w warunkach ku temu sprzyjających^{7,8}.

Amplifikacja wirusa w zakażonej komórce jest osiągana przez produktywną infekcję lityczną, w której po wejściu wirusa do podatkowej komórki, aktywowana jest specyficzna kaskada ekspresji genów patogenu. Następnie genom ulega replikacji, a zakaźne wiriony potomne są zbierane i uwalniane. Kaskada lityczna ekspresji genów herpeswirusa rozpoczyna się wraz z syntezą genów najwcześniejszych. Następuje wczesna i późna ekspresja genów.

W odróżnieniu od innych dużych wirusów DNA, wiele genów herpeswirusa nie jest kontrolowanych przez promotory. Przeciwnie, wirusowe białka transaktywacyjne, włączone do powłoki wirionu i uwalniane do komórki zainfekowanej, odgrywają kluczową rolę w aktywacji ekspresji genów wirusa. Taki mechanizm pozwala na znacznie wyższy poziom regulacji, niż pozwalałby na to prosty promotor konstytutywny. Zarówno ograniczenie znacznej ekspresji

genów wirusowych, jak i utrzymanie genomu wirusowego w czasie w okresie utajenia, pozwalają na przetrwanie infekcji przez całe życie gospodarza, nawet w obliczu intensywnego nadzoru immunologicznego^{6,9}.

Dane zakażenie można zakwalifikować jako latentnie, gdy zostaną spełnione dwa warunki. Po pierwsze, musi dojść do trwałego zakażenia, które nie ustępuje pomimo odpowiedzi immunologicznej gospodarza lub działania nie sprzyjających wirusowi czynników zewnętrznych. Kolejnym warunkiem jest możliwość reaktywacji wirusa określana mianem zakażenia produktywnego⁸.

Chociaż dostępne są leki hamujące replikację lityczną, obecnie nie istnieją metody leczenia komórek zakażonych latentnie. Kontrolowanie lub leczenie infekcji herpeswirysem wymagałoby modulacji czy też eliminacji wewnątrzkomórkowego rezerwuaru HCMV (ang. *human cytomegalovirus*). Z tego względu, zrozumienie mechanizmów molekularnych, rządzących latencją, jest niezbędne do wyjaśnienia podstaw nowoczesnych terapii stosowanych w leczeniu cytomegalii^{6,8}.

1.2. Zakażenie wirusem cytomegalii

Zakażeniu wirusem cytomegalii (CMV, ang. *Cytomegalovirus*) rzadko towarzyszą specyficzne objawy. Wirus może na pewien czas przejść w stan uśpienia, a następnie zostać reaktywowany, powodując wznowę choroby. Zakażenie CMV dotyczy w szczególności noworodki i dzieci w wieku przedszkolnym, chociaż najnowsze badania, prowadzone w Stanach Zjednoczonych wskazują, że połowa dorosłych w wieku powyżej 30 lat jest lub była zarażona. Wirus może ulegać transmisji z ciężarnej na płód poprzez wzajemną wymianę składników w krążeniu płodowym¹⁰.

Ludzki cytomegalowirus, jako członek *Betaherpesvirinae*, ustala latencję i trwa przez całe życie jednostki¹¹. Odpowiada on za bezobjawowe zakażanie największej liczby osób na świecie. Zwrócono na niego uwagę na początku ubiegłego wieku, gdy w wycinkach histopatologicznych, pobranych z poronionych płodów, zauważono charakterystyczne przerośnięte, komórki nazywane „oczami sowy” (ang. *owl's eye inclusions*). W drugiej połowie XX wieku podobny obraz uzyskano w próbkach pobranych od pacjentów, którzy przechodzili przez proces przeszczepiania narządów¹²⁻¹⁴. Bardziej nowoczesne metody diagnostyczne pokazują, że HCMV powoduje częste infekcje oportunistyczne u płodów, biorców przeszczepu allogenicznego, pacjentów po przeszczepie szpiku kostnego oraz chorych na AIDS. Oprócz wywoływania wyraźnych chorób narządów końcowych (z ang. *overt end-organ disease*), CMV często związany

jest z działaniami pośrednimi, wynikającymi z transplantacji, w tym odrzuceniem przeszczepów i występowaniem chorób sercowo-naczyniowych^{12,15}. Skutki przewlekłego ukrywania się HCMV przed odpornością komórkową i humoralną wiążą się bezpośrednio z nadmierną śmiertelnością w populacji ludzkiej, co świadczy o większej szkodliwości wirusa na ludzki organizm niż początkowo zakładano¹⁶.

Do zakażenia CMV u dzieci może dojść w trakcie ciąży (zakażenie wrodzone), w czasie porodu (zakażenie okołoporodowe) oraz w okresie poporodowym (zakażenie poporodowe)¹⁰. Najpoważniejsze w skutkach jest zakażenie wrodzone, w którym postać objawowa występuje u około 10% zakażonych noworodków, natomiast u pozostałych występuje postać bezobjawowa. U 13,5% dzieci z bezobjawowym zakażeniem stwierdza się późne, groźne w skutkach powikłania, w tym m.in. niedosłuch odbiorczy (SNHL, ang. *sensorineural hearing loss*)¹⁷.

W większości badań opisujących skutki zakażenia CMV, infekcja ta jest główną, niegenetyczną przyczyną SNHL u dzieci. Wśród niemowląt, u których rozwinął się SNHL związany z CMV, utrata słuchu w wyniku uszkodzenia ucha środkowego przez infekcję może być obecna przy urodzeniu lub może mieć opóźniony początek, pojawiając się w ciągu pierwszych kilku lat życia. Około 50% dzieci z SNHL doświadcza dalszego pogorszenia lub całkowitej utraty słuchu w dzieciństwie, a stopień ubytku słuchu może się zmieniać nawet u połowy zakażonych niemowląt^{17,18}.

Zakażenia wrodzone CMV dotyczą szacunkowo od 0,5% do 2% populacji noworodków. Niezależnie od postaci choroby mogą wystąpić następstwa wewnątrzmacicznego zakażenia CMV. Do zakażenia płodu dochodzi drogą łożyskową, zarówno podczas pierwotnej, jak i wtórnej infekcji u ciężarnej (reaktywacja zakażenia lub ponowna infekcja innym szczepem wirusa)¹⁸. Brak swoistych przeciwciał IgG jest jednym z czynników zwiększających transmisję zakażenia CMV. Kolejnym jest ciąża w ciągu 2 lat od inicjacji seksualnej, wiek poniżej 20 roku życia oraz częsty kontakt z małymi dziećmi w czasie ciąży. Najnowsze badania wskazują, że u 30-40% pacjentek przy pierwotnym zakażeniu obecne jest najwyższe ryzyko wertykalnej transmisji wirusa na płód. Z kolei przy przewlekłym zakażeniu CMV ryzyko transmisji wirusa wynosi od 1% do 3% i rzadko prowadzi do uszkodzenia płodu (w 10% przypadków)^{18,19}.

Inaczej prezentują się dane statystyczne wśród pacjentów w immunosupresji przy zakażeniu CMV. Po allogenicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych (allo-H-SCT, ang. *Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) może dojść do wielonarządowej choroby zarówno we wczesnej, jak

i później fazie po przeszczepie. Po allo-HSCT częstość reaktywacji CMV wynosi około 30%, z kolei częstość występowania choroby powiązanej z CMV wynosi około 3%. Wśród pacjentów, którzy wcześniej mieli zdiagnozowaną chorobę nowotworową układu krwiotwórczego, stwierdza się częstsze zakażenia antygenami CMV w chorobach limfoproliferacyjnych, niż w nowotworach mieloproliferacyjnych (odpowiednio 13,6% i 3,9%)^{19,20}.

1.3. Powikłania

Powikłania zakażenia CMV różnią się w zależności od ogólnego stanu zdrowia pacjenta oraz czasu trwania zakażenia. CMV, choć rzadko, powoduje rozwój mononukleozy u zdrowego dorosłego. Inne rzadkie powikłania u zdrowych dorosłych obejmują zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, wątroby, mózgu i układu nerwowego. W przypadku pacjentów z osłabioną odpornością może nastąpić utrata wzroku, spowodowana zapaleniem siatkówki i objawiająca się utratą wzroku lub “pływającymi plamami” przenikającymi przez pole widzenia. Następnie gojenie się uszkodzeń, wywołanych zapaleniem, przebiega ze zwłóknieniem mogącym doprowadzić w przyszłości do odwarstwienia siatkówki².

Dodatkowo u tej grupy pacjentów mogą wystąpić choroby układu pokarmowego, w tym zapalenie okrężnicy, przełyku i wątroby, choroby układu nerwowego, w tym zapalenie mózgu czy też zapalenie płuc. Do zapalenia dochodzi najczęściej na skutek przeszczepu komórek krwiotwórczych²². W wyniku stanu zapalnego dochodzi do zwiększenia dystansu pomiędzy światłem pęcherzyków płucnych a naczyniami krwionośnymi, co w efekcie prowadzi do upośledzenia wymiany gazowej zwiększając ryzyko zgonu²³.

Powikłania u niemowląt z wrodzonym zakażeniem CMV mogą obejmować: ubytek słuchu, upośledzenie rozwoju intelektualnego, zaburzenia wzroku, brak koordynacji ruchowej oraz ogólne osłabienie organizmu^{17,18,21}. Wirus, oddziałując na płód, może prowadzić do; wewnątrzmacicznego zahamowania wzrostu płodu, osutki krwotocznej, małopłowia, powiększenia wątroby, śledziony oraz może wywołać żółtaczkę²⁴. Infekcja prowadzi do zaburzeń organogenezy, co stanowi bezpośrednią przyczynę niedosłuchu odbiorczego, natomiast częstotliwość występowania zaburzeń w budowie ciała wywołanych tym wirusem szacuje się na 7 na 1000 noworodków w skali światowej²⁵.

1.4. Śmiertelność

Zakażenia CMV rzadko wiążą się ze śmiertelnością u gospodarzy, o ile nie występuje u nich upośledzenie odporności (<1%). U pacjentów z zespołem mononukleozowym może wystąpić wzrost zachorowalności. Zarówno u biorców przeszczepu narządu litego, jak i szpiku, istnieje zwiększone ryzyko zachorowalności oraz śmiertelności, pomimo stosowanej terapii przeciwwirusowej. Śmiertelność u biorców allogenicznego przeszczepu szpiku ze śródmiąższowym zapaleniem płuc waha się od 15% do 75%. RNA cytomegalowirusa można wykryć w 15% tkanek organizmu człowieka oraz płodu, co może wskazywać na to, że zakażenie CMV w czasie ciąży przyczynia się do zwiększenia prawdopodobieństwa wystąpienia martwych urodzeń^{19,26}.

U pacjentów, u których obecne jest zapalenie wątroby wywołane przez CMV, rokowania są na ogół dobre. Większość pacjentów ulega całkowitemu wyzdrowieniu. Objawy mogą utrzymywać się w postaci przewlekłego zmęczenia przez kilka miesięcy po pierwotnym zakażeniu. Zapalenie płuc, wywołane wirusem CMV, u biorców przeszczepu szpiku w przeszłości kończyło się zgonem w przypadku ponad 85% populacji chorych. Zastosowanie gancyklowiru w połączeniu z wysokimi dawkami immunoglobuliny w leczeniu zapalenia płuc wywołanego wirusem CMV u biorców allogenicznego przeszczepu szpiku obniżyło śmiertelność do 30%-60%. Ponieważ pacjenci, u których rozwinęła się choroba CMV, mają obniżoną odporność, ich rokowanie może być uzależnione od choroby współistniejącej. Konieczność wentylacji mechanicznej pacjenta również jest złym prognostykiem^{19,26}.

U pacjentów po przeszczepach CMV stanowi najpopularniejszy patogen wirusowy, CMV zostaje wykryty u około 12,4% testowanych. Infekcja prowadzi do serii powikłań, w tym do odrzucenia przeszczepów oraz odpowiada za około 2% zgonów u osób po wykonanym zabiegu transplantacji. Ponadto, w odniesieniu do przedstawionej przez autorów metaanalizy z 2018 roku istotnym problemem jest oporność CMV na stosowane dotychczas farmaceutyki²⁷.

2. Patomechanizm zakażenia

Wirus cytomegalii wnika do komórek gospodarza poprzez przyłączenie swoistych glikoprotein (gM-gN, gB gH-gL-gO, gH-gL-UL128-UL130-) do glikoprotein gospodarza (HSPG, EFGR, PDGFRa, integryn, specyficznych receptorów komórkowych). Wirus ten dostaje się do wnętrza leukocytów, limfocytów oraz fibroblastów²³. Ponadto, HCMV wykształcił wiele mechanizmów

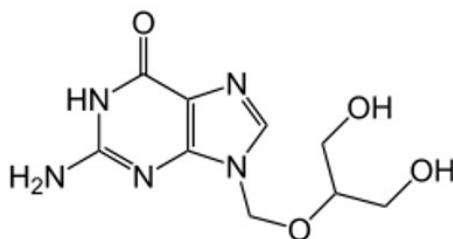
chroniących go przed działaniem układu immunologicznego^{28–30}. W związku z tym, wirus potrafi zintegrować się z komórkami gospodarza na okres całego jego życia lub dokonywać oportunistycznych reinfekcji. HCMV ukierunkowuje prezentację antygeny MHC klasy I i II w sposób zapewniający mu ochronę przed komórkami układu immunologicznego człowieka^{22,31–36}. Dane kliniczne pokazują jednak, iż nieznaczna część osób będących zainfekowana wirusem choruje czynnie bądź pada ofiarą reinfekcji. Dotyczy to głównie osób immunokompetentnych, z uwagi na niewystarczającą wydajność tych mechanizmów do wywoływania chorób narządowych²³. Cykl *Betaherpesvirinae* wirusów jest lizogeniczny, do replikacji dochodzi w wyniku dwukierunkowej replikacji dsDNA, następnie gotowe wirusy są uwalniane na zewnątrz komórki. Do zakażenia wirusem dochodzi poprzez kontakt z płynami ustrojowymi (np. ślina, mocz, wydzieliny narządów płciowych) osobnika zakażonego²³.

3. Leki stosowane w terapii CMV

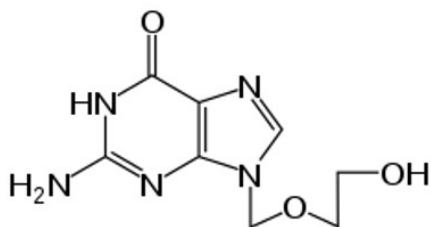
3.1. Nieselektywne leki przeciwwirusowe

Obecnie nie ma leku pozwalającego na całkowitą eliminację wirusa z organizmu. Terapia zakażeń CMV u dzieci opiera się głównie na podawaniu leków hamujących namnażanie się patogenu, głównie gancyklowiru w dawce 6 mg/kg mc. i.v. 2 razy/24h oraz walgancyklowiru 16 mg/kg mc. p.o. 2 razy/24h. Terapię należy wdrożyć w ciągu pierwszych 28 dni życia i powinna trwać 8 tygodni. Zapalenie siatkówki wywołane przez HCMV jest leczone najczęściej poprzez podawanie leków z grupy inhibitorów polimerazy DNA; gancyklowiru stosowanego ogólnoustrojowo oraz foscarnetu przyjmowanego dożylnie^{37,38}.

3.1.1. Gancyklowir i Walgancyklowir



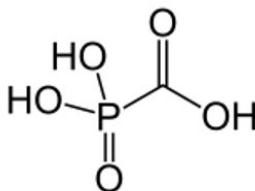
Rycina 1. Wzór strukturalny Gancyklowiru³⁹

Rycina 2. Wzór strukturalny Acyklowiru⁴⁰

Gancyklowir jest prolekiem, pochodną acyklowiru. Stosowany jest podczas terapii noworodków jako lek hamujący progresję choroby. Krótkoterminowo przyspiesza wzrost masy ciała i obwodu głowy dziecka oraz powoduje ustąpienie zaburzeń czynności wątroby⁴¹. W Leczeniu walgancyklowirem uzyskuje się wyniki farmakoterapii porównywalne, jak w przypadku stosowania gancyklowiru⁴². Mechanizm działania polega na antysensownym wbudowywaniu się leku do materiału genetycznego podczas replikacji wirusa, co skutkuje zahamowaniem jego replikacji. Lek podawany jest głównie drogą doustną, ale może być także podawany parenteralnie. Stosowanie tej substancji leczniczej wiąże się z możliwością wystąpienia oporności na stosowaną terapię, a częstotliwość tych zdarzeń jest dość częsta⁴³.

Zarówno gancyklowir jak i acyklowir mogą wywoływać objawy uboczne ze strony przewodu pokarmowego, takie jak nudności, biegunka, bóle brzucha oraz manifestacje skórne, takie jak wysypka, świąd. Dodatkowo podczas stosowania gancyklowiru należy się liczyć także ze znacznie częstszymi niż przypadku acyklowiru niedokrwistościami.^{42, 43}

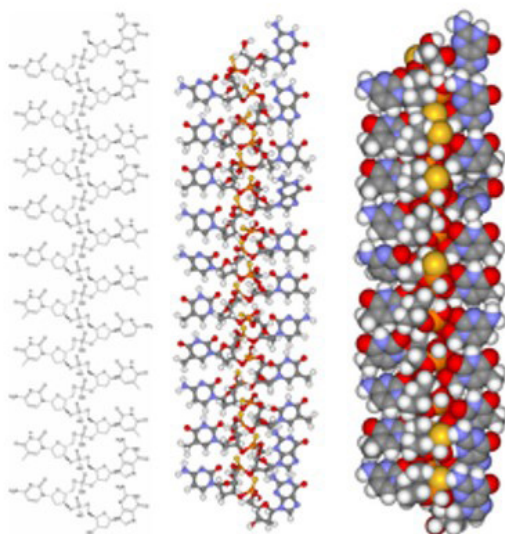
3.1.2. Foscarnet

Rycina 3. Wzór strukturalny Foscarnetu⁴⁴

Innym nieselektywnym lekiem, stosowanym w leczeniu zakażeń CMV, jest foscarnet, odwracalny inhibitor polimerazy DNA herpeswirusów.

Podawany jest we wlewach dożylnych. Stosowanie foscarnetu może wywoływać ciężkie działania niepożądane do których zaliczymy: gorączkę, zaburzenia żołądkowo-jelitowe, zaburzenia czynności wątroby, uszkodzenie nerek i zaburzenia elektrolitowe⁴³. W związku z jego wysoką toksycznością, stosowany jest głównie w przypadku braku skuteczności pozostałych leków. Ponadto, analogicznie do gancykłowiru, istnieje wysokie ryzyko wykształcenia się oporności leku⁴⁵. Foscarnet w Polsce zarejestrowany jest tylko do użytku miejscowego⁴³.

3.2.3. Fomiwirsen



Rycina 4. Wzór strukturalny Fomiwirsenu ⁴⁶

Fomiwirsen jest jednym z szerzej stosowanych leków o nieselektywnym mechanizmie działania. Należy on do leków antysensownych (jest to analog oligonukleotydu), łączących się z właściwą sekwencją w mRNA, uniemożliwiając syntezę białek regionu 2, hamując replikację wirusa cytomegalii⁴⁷. Podawany jest pozajelitowo, głównie miejscowo z uwagi na wysoką toksyczność, najczęściej stosuje się go w wyniku następstw infekcji CMV w obrębie gałki ocznej⁴⁷.

Do działań niepożądanych należą: nudności i wymioty, bóle brzucha, biegunki, gorączka, wysypka, zapalenie płuc, zaburzenia czynności wątroby i nerek, zaburzenia widzenia oraz świąd po podaniu miejscowym (głównie w postaci ocznej CMV)⁴³.

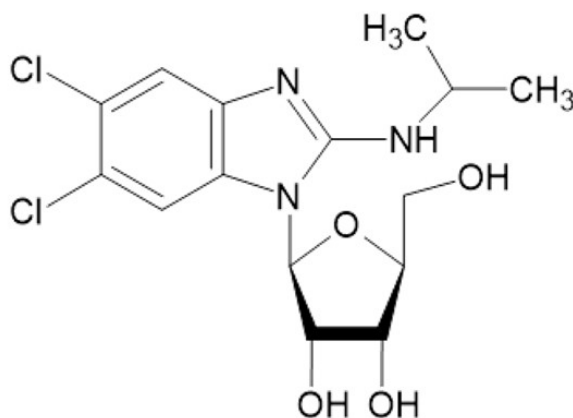
3.2. Selektywne leki przeciwwirusowe

Wśród pacjentów, poddanych leczeniu immunosupresyjnemu, zakażenie CMV jest jednym z najgroźniejszych powikłań po przeszczepie szpiku lub narządów litych. U tej grupy pacjentów stosuje się leczenie profilaktyczne, polegające na zastosowaniu preparatów krwiopochodnych od dawców CMV-seronegatywnych. W przypadku aktywnej infekcji HCMV, przeszczep powinien być odroczony do czasu przeprowadzenia odpowiedniej terapii anty-CMV u pacjenta zakwalifikowanego do przeszczepu³⁸.

Liczne badania dopuszczają stosowanie leków nowej generacji w leczeniu CMV u chorych po przeszczepach. Mechanizm ich działania polega na selektywnym wiązaniu się z enzymem cytomegalowirusa. Celowane działanie leków zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia toksycznych działań niepożądanych (mielosupresja, nefrotoksyczność) które są charakterystyczne dla leków starszej generacji (np. Gancyklowiru)⁴⁸.

3.2.1. Maribavir

Maribawir to specyficzny inhibitor kinazy pUL97 cytomegalowirusa, zaliczany do grupy benzaamidazoli. Lek ten zastępuje cząsteczkę ATP, niezbędną do działania kinazy pUL97, uniemożliwiając tym samym replikację wirusa, poprzez blokowanie składania DNA wirusa oraz przemieszczania kapsydów wirusowych z jądra zakażonych komórek⁴⁸.



Rycina 5. Wzór strukturalny Maribawiru⁴⁹

Dodatkową zaletą farmakoterapii maribawirem jest stosowanie doustne, będące preferowanym przez pacjentów sposobem przyjmowania leków. Badania wykazały niskie ryzyko wystąpienia mielosupresji oraz nefrotoksyczności. Z tego względu lek ten może być stosowany w terapii CMV u osób po przeszczepach komórek krwiotwórczych i narządów litych, bez większego ryzyka powikłań⁴⁸. Podczas stosowania maribawiru należy mieć na uwadze jego interakcje z immunosupresantami. Prowadzą one do nasilenia ich działania, a w konsekwencji do redukcji dawek stosowanych leków⁵⁰. Antagonistyczne działanie maribawiru z gancyklowirem (inaktywacja pUL97) uniemożliwia efektywne działanie gancyklowiru, dlatego nie jest zalecane podawanie tych substancji czynnych w tym samym czasie⁴⁸.

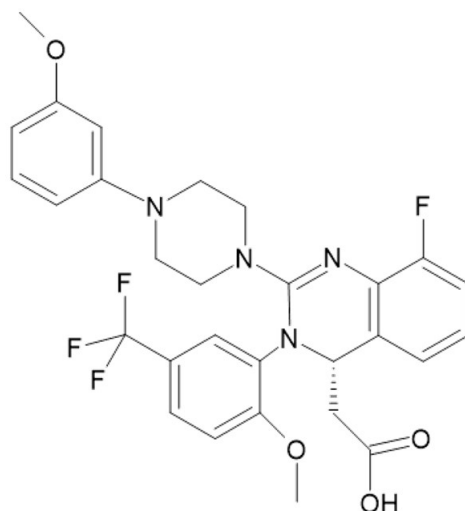
W organizmie lek bardzo dobrze wiąże się z białkami osocza (w 98%). Jego eliminacja z ustroju następuje w wyniku metabolizmu wątrobowego, następnie metabolity są wydalane głównie z moczem (61%, w tym <2% jako postać niezmieniona) i kałem (14% w tym 5,7% jako niezmieniona postać leku).

W związku z doustnym podawaniem maribawiru, do najczęstszych powikłań należą zaburzenia smaku, które występują u 65% badanych pacjentów. Innymi działaniami niepożądanymi są biegunka, nudności i wymioty. Zaburzenia smaku nie stanowią przeciwwskazania do kontynuowania terapii i nie jest wymagana modyfikacja dawki. Pozostałe działania niepożądane występują bardzo rzadko, nie są istotne klinicznie w kontekście bezpieczeństwa stosowania leku. Ryzyko wykształcenia się oporności na maribawir jest o wiele mniejsze, w porównaniu do leków starej generacji⁵¹.

Stosowanie maribawiru w terapii zakażeń cytomegalii wiąże się z ponoszeniem wysokich kosztów przez pacjentów⁵². W Polsce dostępność do preparatów z maribawirem jest ograniczona, ze względu na brak dopuszczenia do obrotu tej substancji czynnej, co jest dużym utrudnieniem w farmakoterapii CMV.

3.3. Letermowir

Przedmiotem badań w ostatnich latach jest Letermowir. Mechanizm działania polega na upośledzeniu funkcjonowania podjednostki pUL56 terminazy 9 CMV, przez co jego aktywność jest wysoce specyficzna względem CMV⁵³. Badania *in vitro*, wykazały, że lek ten szybko wykształca oporność, która nie jest krzyżowa względem innych dostępnych leków⁵⁴ MK8228.



Rycina 6. Wzór strukturalny letermowiru⁵⁵

Letermowir po podaniu doustnym dobrze się wchłania i osiąga stężenie maksymalne w osoczu po 1,5-3h po podaniu. Biodostępność leku wynosi około 37% i może być zwiększona przez zastosowanie cyklosporyn, co powoduje wzrost biodostępności do 85%. W osoczu lek wiąże się w 98,2% z białkami i tylko niewielka jego część jest rozkładana przez wątrobę. Letermowir w 95% wydalanany jest z kałem, a 2% eliminowany jest z organizmu wraz z moczem⁵⁶.

W badaniach klinicznych wykazano, że rzadko występowały ciężkie, toksyczne działania niepożądane po zastosowaniu letermowiru⁵⁷. Lek może wywoływać nudności, wymioty i biegunkę, a w niektórych przypadkach także: reakcje nadwrażliwości, spadek apetytu, zaburzenia smaku, bóle brzucha, skurcze mięśni oraz zwiększenie aktywności ALAT i ASPAT⁵⁸.

Jednoczesne zastosowanie cyklosporyny nasila działanie letermowiru, co stanowi istotną klinicznie interakcję pomiędzy tymi dwoma lekami. Dodatkowo, nie zaleca się stosowania letermowiru z silnymi i umiarkowanymi induktorami transporterów komórkowych (np. glikoproteiny P) lub enzymów (np. UGT) takimi jak fenytoina, ryfampicyna, lopinawir, modafinil czy etrawiryna.

Lek	Acyklowir i Gancyklowir	Foskarnet	Fomiwirsen	Maribawir	Letermowir
Uciążliwe działania niepożądane	+	+++	++	-	-
Wytwarzanie oporności przy dłuższym stosowaniu	+	+-	+	++	++
Bezpieczeństwo u pacjentów po przeszczepie szpiku przy ogólnoustrojowym stosowaniu	+-	---	--	+++	+++
Niska cena i dobra dostępność	+++	--	--	---	---

Tab. 1 Zestawienie omawianych leków: Acyklowiru i Gancyklowiru, Foskarnetu, Fomiwirsenu, Maribawiru oraz Letermowiru.

4. Podsumowanie

Zakażenia wirusem cytomegalii stanowią poważny problem kliniczny dotyczący pacjentów z upośledzoną odpornością, do których należą: osoby z AIDS, wrodzonymi zaburzeniami odporności, osoby przed, w trakcie, i po przeszczepach. Oprócz wyżej wymienionych przypadków CMV stanowi poważne zagrożenie dla płodów. W wyniku infekcji dochodzi do zaburzeń organogenezy, a w konsekwencji do nieprawidłowej czynności poszczególnych narządów, skutkującej niewydolnością organów oraz zaburzeniami homeostazy, prowadzących nawet do zgonu.

Obecnie stosowane terapie eradykacji tego wirusa stają się niewystarczające z uwagi na coraz bardziej intensywny rozwój transplantologii. Najczęściej stosowane substancje lecznicze, takie jak gancklowir i walgancyklowir, z uwagi na swoje nieswoiste mechanizmy działania w stosunku do CMV, mogą wywoływać wiele ciężkich efektów ubocznych. Są one niekorzystne dla pacjentów poddanych zabiegom transplantologicznym, pacjentów bezpośrednio po nich bądź chorych kondycjonowanych do zabiegu. Do ciężkich działań niepożądanych zaliczymy przede wszystkim mielosupresję, ale również zakażenia grzybicze, neutropenię, wymioty oraz zapalenia skóry⁴⁷.

W farmakoterapii cytomegalii zastosowanie znajdują dwa leki nowej generacji: bardziej selektywny letermowir oraz mniej selektywny maribawir, który

stosowany jest również w leczeniu zakażeń wirusem Epsteina-Barra (EBV)⁵⁹. Porównując obie substancje czynne należy zwrócić uwagę na ryzyko wystąpienia oporności, które jest niższe w przypadku użycia maribawiru, a znacznie wyższe w przypadku terapii letermowirem. Letermowir zmniejsza istotnie ryzyko poważnych działań niepożądanych (nefrotoksyczność, mielosupresja), oraz jest znacznie lepiej tolerowany przez pacjentów⁵⁹.

Leki nowej generacji o selektywnym mechanizmie działania wywołują zdecydowanie mniej działań niepożądanych, przy jednoczesnym osiąganiu podobnych efektów terapeutycznych. Ponadto są stosowane wyłącznie w infekcji CMV, co minimalizuje ryzyko wystąpienia oporności. Otwiera to nowe możliwości terapeutyczne i znacząco podnosi jakość terapii u osób po przeszczepach.

Dodatkowo, możliwość doustnego stosowania leków nowej generacji podczas kuracji zakażeń CMV znacznie podnosi komfort pacjenta i pozwala zredukować ryzyko powikłań terapeutycznych przy niewłaściwym przyjmowaniu substancji czynnej.

W efekcie nowe farmaceutyki stanowią rewolucję w terapii, pozwalając na osiągnięcie porównywalnych bądź lepszych rezultatów w połączeniu z mniejszym ryzykiem powikłań, większym komfortem pacjenta oraz podniesieniem jakości życia. Na chwilę obecną główną wadą nowych rozwiązań są wysokie koszty terapii⁶⁰.

Podniesienie świadomości w środowisku medycznym oraz dalsze prowadzenie badań w kierunku potwierdzenia bądź wykluczenia większej skuteczności terapii nowymi, bezpieczniejszymi lekami ma szansę na zwiększenie dostępności leku i obniżenie kosztów terapii.

Bibliografia

1. Fulkerson HL, Nogalski MT, Collins-McMillen D, Yurochko AD. Overview of Human Cytomegalovirus Pathogenesis. In: ; 2021:1-18. doi:10.1007/978-1-0716-1111-1_1
2. Roizmann B, Desrosiers RC, Fleckenstein B, Lopez C, Minson AC, Studdert MJ. The family Herpesviridae: an update. *Arch Virol*. 1992;123(3-4):425-449. doi:10.1007/BF01317276
3. Hanson L, Dishon A, Kotler M. Herpesviruses that infect fish. *Viruses*. 2011;3(11):2160-2191. doi:10.3390/V3112160
4. Davison AJ, Eberle R, Ehlers B, et al. The order Herpesvirales. doi:10.1007/s00705-008-0278-4

5. Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. *Lancet (London, England)*. 2001;357(9267):1513-1518. doi:10.1016/S0140-6736(00)04638-9
6. Penkert RR, Kalejta RF. Tegument protein control of latent herpesvirus establishment and animation. *Herpesviridae*. 2011;2(1):3. doi:10.1186/2042-4280-2-3
7. Żuk-Wasek A. CHARAKTERYSTYKA BIAŁEK WIRUSA EPSTEINA-BARR – ICH UDZIAŁ W ZAKAŻENIU LATENTNYM I POWIĄZANIE Z PROCESAMI NOWOTWORZENIA. POST. MIKROBIOL.,2012, 51, 3. Published April 2012. Accessed May 1, 2022. <http://www.pm.microbiology.pl/web/archiwum/vol5132012191.pdf>
8. Miszczak D, Słomska A, Golke A, Cymerys J. Strategie przetrwania herpeswirusów - Latencja i apoptoza. *Postepy Hig Med Dosw*. 2013;67:276-287. doi:10.5604/17322693.1044688
9. Tempera I, Klichinsky M, Lieberman PM. EBV Latency Types Adopt Alternative Chromatin Conformations. *PLOS Pathog*. 2011;7(7):e1002180. doi:10.1371/JOURNAL.PPAT.1002180
10. Bennekov T, Spector D, Langhoff E. Induction of immunity against human cytomegalovirus. *Mt Sinai J Med*. 2004;71(2):86-93.
11. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(12):759-773. doi:10.1038/S41579-021-00582-Z
12. Griffiths P, Baraniak I, Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus. *J Pathol*. 2015;235(2):288-297. doi:10.1002/PATH.4437
13. Smith AJ, Weidman F. Infection of a stillborn infant by an amebiform protozoön (Entamoeba mortinatalium, N.S.). Accessed May 1, 2022. https://www.researchgate.net/publication/285443681_Infection_of_a_stillborn_infant_by_an_amebiform_protozoon_Entamoeba_mortinatalium_NS
14. Hill RB, Rowlands DT, Rifkind D. Infectious Pulmonary Disease in Patients Receiving Immunosuppressive Therapy for Organ Transplantation. *N Engl J Med*. 1964;271(20):1021-1027. doi:10.1056/NEJM196411122712001

15. Rubin RH. The indirect effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. *JAMA*. 261(24):3607-3609.
16. Simanek AM, Dowd JB, Pawelec G, Melzer D, Dutta A, Aiello AE. Seropositivity to Cytomegalovirus, Inflammation, All-Cause and Cardiovascular Disease-Related Mortality in the United States. *PLoS One*. 2011;6(2):e16103. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0016103
17. Rawlinson W, Scott G. Cytomegalovirus. A common virus causing serious disease. *Aust Fam Physician*. 2003;32(10):789-793.
18. Revello MG, Gerna G. Pathogenesis and prenatal diagnosis of human cytomegalovirus infection. *J Clin Virol*. 2004;29(2):71-83. doi:10.1016/J.JCV.2003.09.012
19. Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G, Lembo D. The human cytomegalovirus. *Pharmacol Ther*. 2003;98(3):269-297. doi:10.1016/S0163-7258(03)00034-2
20. Meijer E, Boland GJ, Verdonck LF. Prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogeneic stem cell transplants. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(4):647-657. doi:10.1128/CMR.16.4.647-657.2003
21. Boeckh M, Stevens-Ayers T, Travi G, et al. Cytomegalovirus (CMV) DNA Quantitation in Bronchoalveolar Lavage Fluid From Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients With CMV Pneumonia. *J Infect Dis*. 2017;215(10):1514-1522. doi:10.1093/INFDIS/JIX048
22. Atalay R, Zimmermann A, Wagner M, et al. Identification and Expression of Human Cytomegalovirus Transcription Units Coding for Two Distinct Fcγ Receptor Homologs. *J Virol*. 2002;76(17):8596-8608. doi:10.1128/JVI.76.17.8596-8608.2002/ASSET/CA-566999-C346-449E-B3DC-936B8F83FEFE/ASSETS/GRAPHIC/JV172043308E.JPEG
23. Murray MJ, Peters NE, Reeves MB. Navigating the Host Cell Response during Entry into Sites of Latent Cytomegalovirus Infection. *Pathog (Basel, Switzerland)*. 2018;7(1). doi:10.3390/PATHOGENS7010030
24. Boppana SB, Fowler KB, Britt WJ, Stagno S, Pass RF. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in infants born to mothers with preexisting immunity to cytomegalovirus. *Pediatrics*. 1999;104(1 Pt 1):55-60. doi:10.1542/PEDS.104.1.55

25. Dollard SC, Grosse SD, Ross DS. New estimates of the prevalence of neurological and sensory sequelae and mortality associated with congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol.* 2007;17:355-363. doi:10.1002/rmv.544
26. Chiopris G, Veronese P, Cusenza F, et al. Congenital Cytomegalovirus Infection: Update on Diagnosis and Treatment. *Microorganisms.* 2020;8(10):1-17. doi:10.3390/MICROORGANISMS8101516
27. Hryniewiecka E, Sołdacki D, Pączek L. Cytomegaloviral infection in solid organ transplant recipients: preliminary report of one transplant center experience. *Transplant Proc.* 2014;46(8):2572-2575. doi:10.1016/J.TRANSPROCEED.2014.09.012
28. Fielding CA, Weekes MP, Nobre L V., et al. Control of immune ligands by members of a cytomegalovirus gene expansion suppresses natural killer cell activation. *Elife.* 2017;6. doi:10.7554/ELIFE.22206
29. Patel M, Vlahava VM, Forbes SK, Fielding CA, Stanton RJ, Wang ECY. HCMV-Encoded NK Modulators: Lessons From in vitro and in vivo Genetic Variation. *Front Immunol.* 2018;9(OCT):2214. doi:10.3389/FIMMU.2018.02214
30. Berry R, Watson GM, Jonjic S, Degli-Esposti MA, Rossjohn J. Modulation of innate and adaptive immunity by cytomegaloviruses. doi:10.1038/s41577-019-0225-5
31. Prod'homme V, Griffin C, Aicheler RJ, et al. The Human Cytomegalovirus MHC Class I Homolog UL18 Inhibits LIR-1+ but Activates LIR-1- NK Cells. *J Immunol.* 2007;178(7):4473-4481. doi:10.4049/JIMMUNOL.178.7.4473
32. Prod'homme V, Sugrue DM, Stanton RJ, et al. Human cytomegalovirus UL141 promotes efficient downregulation of the natural killer cell activating ligand CD112. *J Gen Virol.* 2010;91(Pt 8):2034-2039. doi:10.1099/VIR.0.021931-0
33. Kubin M, Cassiano L, Chalupny J, et al. ULBP1, 2, 3: novel MHC class I-related molecules that bind to human cytomegalovirus glycoprotein UL16, activate NK cells. *Eur J Immunol.* 2001;31(5):1428-1437. doi:10.1002/1521-4141(200105)31:5<1428::AID-IMMU1428>3.0.CO;2-4

34. Tomasec P, Wang ECY, Davison AJ, et al. Downregulation of natural killer cell–activating ligand CD155 by human cytomegalovirus UL141. *Nat Immunol.* 2005;6(2):181-188. doi:10.1038/ni1156
35. Cosman D, Müllberg J, Sutherland CL, et al. ULBPs, Novel MHC Class I–Related Molecules, Bind to CMV Glycoprotein UL16 and Stimulate NK Cytotoxicity through the NKG2D Receptor. *Immunity.* 2001;14(2):123-133. doi:10.1016/S1074-7613(01)00095-4
36. Lilley BN, Ploegh HL, Tirabassi RS. Human Cytomegalovirus Open Reading Frame TRL11/IRL11 Encodes an Immunoglobulin G Fc-Binding Protein. *J Virol.* 2001;75(22):11218-11221. doi:10.1128/JVI.75.22.11218-11221.2001
37. Kadambari S, Williams EJ, Luck S, Griffiths PD, Sharland M. Evidence based management guidelines for the detection and treatment of congenital CMV. *Early Hum Dev.* 2011;87(11):723-728. doi:10.1016/J.EARLHUMDEV.2011.08.021
38. Pokorska-Śpiewak M, Niezgoda A, Gołkowska M, et al. Rekomendacje postępowania w zakażeniach wirusem cytomegalii (CMV). Zalecenia Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych - 2016. Przegląd Epidemiologiczny. Published 2016. Accessed April 28, 2022. http://www.pteilchz.org.pl/wp-content/uploads/2018/11/rekom_cmv_2016.pdf
39. Plik:Ganciclovir Structural Formulae V.1.svg – Wikipedia, wolna encyklopedia. Accessed July 6, 2022. https://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Ganciclovir_Structural_Formulae_V.1.svg
40. Plik:Aciclovir standard.svg – Wikipedia, wolna encyklopedia. Accessed July 6, 2022. https://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Aciclovir_standard.svg
41. Kimberlin DW, Lin CY, Sánchez PJ, et al. Effect of ganciclovir therapy on hearing in symptomatic congenital cytomegalovirus disease involving the central nervous system: a randomized, controlled trial. *J Pediatr.* 2003;143(1):16-25. doi:10.1016/S0022-3476(03)00192-6
42. Kimberlin DW, Acosta EP, Sánchez PJ, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic assessment of oral valganciclovir in the treatment of symptomatic congenital cytomegalovirus disease. *J Infect Dis.* 2008;197(6):836-845. doi:10.1086/528376

43. Janiec W. *Kompendium Farmakologii*. 4th ed. (Janiec W, ed.). PZWL; 2015.
44. Plik:Foscarnet.svg – Wikipedia, wolna encyklopedia. Accessed July 6, 2022. <https://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Foscarnet.svg>
45. Hakki M. Moving Past Ganciclovir and Foscarnet: Advances in CMV Therapy. *Curr Hematol Malig Rep*. 2020;15(2):90-102. doi:10.1007/S11899-020-00557-6/TABLES/1
46. File:Fomivirsen composite.png - Wikipedia. Accessed July 6, 2022. https://en.wikipedia.org/wiki/File:Fomivirsen_composite.png
47. de Smet MD, Meenken C, Van Den Horn GJ. Fomivirsen – a phosphorothioate oligonucleotide for the treatment of CMV retinitis. *Ocul Immunol Inflamm*. 1999;7(42067):189-198. doi:10.1076/OCII.7.3.189.4007
48. Bdcrb | C12H11BrCl2N2O4 - PubChem. Accessed May 1, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bdcrb>
49. File:Maribavir.svg - Wikimedia Commons. Accessed July 6, 2022. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Maribavir.svg>
50. Search results for: “maribavir.” Accessed May 1, 2022. <https://www.adooq.com/catalogsearch/result/?q=maribavir>.
51. Humphrey GR, Dalby SM, Andreani T, et al. Asymmetric synthesis of letermovir using a novel phase-Transfer-catalyzed aza-michael reaction. *Org Process Res Dev*. 2016;20(6):1097-1103. doi:10.1021/ACS.OPRD.6B00076
52. Maribavir | C15H19Cl2N3O4 - PubChem. Accessed May 1, 2022. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/471161?fbclid=IwAR0_4jbhzNU6tnhC1n5kbNXFhcE8JEJGEADAG8Q7O-crvYdB9bjEvfLCZDM#section=Clinical-Trials
53. Piret J, Boivin G. Clinical development of letermovir and maribavir: Overview of human cytomegalovirus drug resistance. *Antiviral Res*. 2019;163:91-105. doi:10.1016/j.antiviral.2019.01.011
54. Lischka P, Michel D, Zimmermann H. The Journal of Infectious Diseases Characterization of Cytomegalovirus Breakthrough Events in a Phase 2 Prophylaxis Trial of Letermovir (AIC246, MK 8228). Published online 2015. doi:10.1093/infdis/jiv352

55. File:Letermovir skeletal.svg - Wikimedia Commons. Accessed July 6, 2022. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Letermovir_skeletal.svg
56. ANNEX I SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS.
57. Marschall M, Stamminger T, Urban A, et al. *In Vitro* Evaluation of the Activities of the Novel Anticytomegalovirus Compound AIC246 (Letermovir) against Herpesviruses and Other Human Pathogenic Viruses. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(2):1135-1137. doi:10.1128/AAC.05908-11
58. Letermowir - Medycyna Praktyczna. Accessed May 1, 2022. <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=5797>.
59. Imlay HN, Kaul DR. Letermovir and Maribavir for the Treatment and Prevention of Cytomegalovirus Infection in Solid Organ and Stem Cell Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 2021;73(1):156-160. doi:10.1093/cid/ciaa1713
60. Maribavir | ≥99%(HPLC) | UL97 kinase inhibitor | AdooQ®. Accessed May 1, 2022. <https://www.adooq.com/maribavir.html>

SZTUCZNY ZWIERACZ CEWKI MOCZOWEJ JAKO INNOWACYJNA METODA LECZENIA CIĘŻKIEGO NIETRZYMANIA MOCZU

WERONIKA TARGOSZ

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

Abstrakt

Problem nietrzymania moczu, który dotyczy około 423 milionów osób na świecie, znacząco obniża komfort życia. W latach 70. XX wieku Brantley Scott opatentował model sztucznego zwieracza cewki moczowej (ang. *artificial urinary sphincter*, AUS), co było przełomem w dziedzinie leczenia ciężkiego nietrzymania moczu, zwłaszcza u mężczyzn po radykalnej prostatektomii. Po ulepszeniu pierwszego projektu powstał AMS 800, który jest „złotym standardem” od lat 80. XX wieku. W warunkach uaktywnienia, mankiet jest wypełniony płynem pod zwiększonym ciśnieniem, uciska szyję pęcherza imitując działanie zwieracza cewki moczowej. Gdy pacjent czuje potrzebę oddania moczu naciska pompkę, co powoduje przepływ płynu z mankieta do zbiornika i zwolniony zostaje ucisk wokół szyi pęcherza, dzięki czemu pacjent może swobodnie oddać mocz. Po około dwóch minutach płyn samoistnie przepływa ze zbiornika do mankieta, ponownie zaciskając się wokół cewki. Według przeprowadzonych badań, zadowolenie i poprawę jakości życia zgłosiło ponad 90% pacjentów, którym wszczepiono AUS. Temat sztucznych zwieraczy jest ciągle otwarty i daje szereg możliwości, by tworzyć coraz nowsze i bezpieczniejsze modele, bazując na jak najbardziej zaawansowanych technologiach.

Słowa kluczowe: sztuczny zwieracz cewki moczowej, AMS 800, nietrzymanie moczu

Abstract

The urine incontinence issue involve about 423 milion of people all around the world and it significantly decrease quality of life. In 70. XX century Brantley Scott invented the first artificial urinary sphincter model which was a huge breakthrough in severe urinary incontinence treatment, especially in post-prostatectomy patients. AMS 800 is a refinement of the first model and it is “gold standard” of usage since 80. XX century till now. An active phase of the dvice takes place when urethra is constricted by a cuff which is filled by a highly-pressurised fluid. If patient feels necessity to urinate, he will press a pump which cause flow the fluid from a cuff to a baloon reducing constriction and allows urine flow through the urethra. About 2 minutes later, the fluid reflow to the cuff spontaneously, constricting the urethra again. As research shows, almost 90% of patients reported to be satisfied beacouse of the AMS 800 implantation. AUS issue is undiscovered yet and gives opportunities for scientists to create newer models basing on the newest technologies.

Keywords: artificial urinary sphincter, AMS 800, urine incontinence

1. Wstęp

Nietrzymanie moczu jest definiowane jako mimowolna utrata moczu i jest zakwalifikowane jako stan chorobowy. Przyczynia się ono do znacznego zmniejszenia komfortu życia. Obecnie schorzenie to wciąż często stanowi temat tabu, co w dużej mierze wynika z zakłopotania do przyznania się lekarzowi o takiej dolegliwości. W badaniach populacyjnych częstość nietrzymania moczu oscyluje między 9,9% a 36,1%, z czego dwukrotnie częściej problem ten zgłaszały starsze kobiety niż starsi mężczyźni.¹ Szacuje się, że liczba osób z tym schorzeniem to ok. 423 miliony w skali globalnej, z czego ok. 2 mln chorych to Polacy.² Uznawając to, iż jest to problem powszechny, o którym trzeba rozmawiać, celem znajdowania coraz lepszych jego rozwiązań.¹

Pacjenci z ciężkim nietrzymaniem moczu, które nie polepsza się w ramach klasycznego leczenia mogą aspirować do wszczepienia im sztucznego zwieracza cewki moczowej (ang. *Artificial urinary sphincter*, AUS). Około 90% takich pacjentów stanowią mężczyźni po radykalnej prostatektomii. Neurogenne nietrzymanie moczu u kobiet i oporne nietrzymanie moczu u dzieci także mogą być wskazaniem do wszczepienia AUS, ale praktykowane jest to rzadziej.³

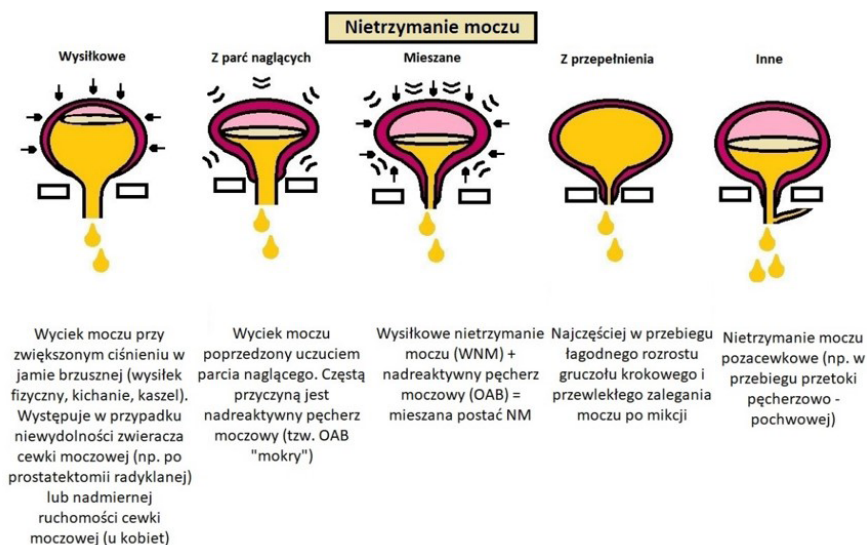
Pierwsza wzmianka o możliwości zastosowania sztucznego zwieracza cewki moczowej została opisana przez Frederica Foleya w 1943 roku.⁴ Jednak pomysłodawcą obecnie używanego AUS był Brantley Scott. Pierwszym wyprodukowanym i zastosowanym klinicznie według pomysłu Scotta był AMS 871 wyprodukowany przez American Medical Systems w Minnesocie, a następnie ulepszony AMS 800, stosowany od lat 80. XX wieku aż do dziś.⁵

2. Etiopatogeneza i rodzaje nietrzymania moczu

Czynnikami ryzyka nietrzymania moczu (NTM) u kobiet są głównie ciąża, naturalny poród i menopauza, ale także BMI (ang. *body mass index*) (zarówno wysokie jak i zbyt niskie), natomiast u mężczyzn - wiek, objawy ze strony dolnych dróg moczowych (ang. *lower urinary tract symptoms*, LUTS), infekcje, choroby neurologiczne i radykalna prostatektomia.⁶

W celu lepszego zrozumienia zagadnienia, należy skupić się na ogólnym aspekcie przyczyniającym się do nietrzymania moczu. Mianowicie, do wystąpienia NTM dochodzi w następstwie zachwiania równowagi pomiędzy napięciem zwieracza cewki moczowej, a ciśnieniem panującym w pęcherzu moczowym. Tak ogólnie sformułowana przyczyna stanowi podwaliny pod różne

typy NTM i ułatwia zrozumienie zagadnienia. Rodzaje nietrzymania moczu przedstawiono na Ryc. 1.⁵



Ryc.1. Rodzaje i etiopatogeneza nietrzymania moczu wg T. Drewa, K. Juszczak. Urologia Ilustrowany podręcznik dla studentów i stażystów⁷

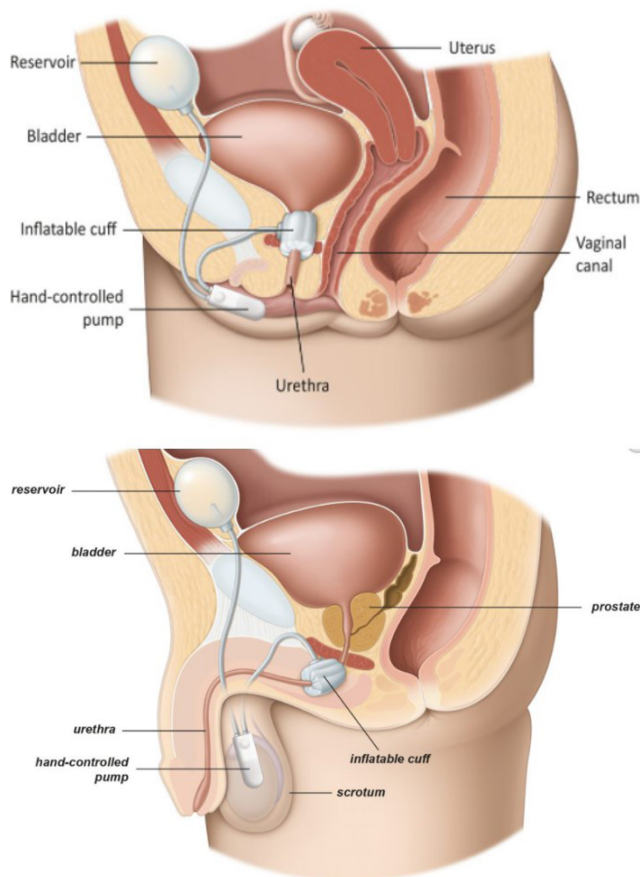
2.1. Leczenie NTM

Pierwszym krokiem w leczeniu są zmiana trybu życia i ćwiczenie mięśni dna miednicy, a dopiero kolejnym jest farmakoterapia. Skuteczność leków na NTM opiera się o zwiększenie napięcia mięśni gładkich i prążkowanych cewki moczowej oraz wzrost unaczynienia błaski właściwej cewki. Efekt taki jest wywierany przez stymulację receptorów α -adrenergicznych przez noradrenalinę - poprzez regulację wychwyty zwrotnego, albo regulację jej syntezy i uwalniania. W leczeniu wysiłkowego nietrzymania moczu stosowane są m.in.: duloksetyna, imipramina, noradrenalina, efedryna, czy midodryna. Natomiast, w sytuacji NTM z przepełnienia, najlepsze efekty przynosi stosowanie antagonistów receptorów α_1 -adrenergicznych lub leków antymuskarynowych. Jednak w tym drugim przypadku, nie ma pewności czy farmakoterapia będzie lepsza niż zastosowanie cewnikowania lub leczenia zabiegowego. Nadal trwają badania nad znalezieniem najkorzystniejszej dla pacjentów formy terapii tego zaburzenia. Szczególną grupą pacjentów okazują się być mężczyźni po radykalnej prostatektomii, gdyż u nich najtrudniej zapanować nad NTM. Jeżeli wszystkie

podstawowe sposoby leczenia okazały się nieskuteczne i zwieracz cewki jest niewydolny, to taki pacjent może predysponować do wszczęcia mu sztucznego zwieracza cewki moczowej lub męskiego silingu.⁶

3. Budowa i mechanizm działania AMS 800

AMS 800 składa się z mankietu, pompki i zbiornika płynu. W warunkach uaktywnienia mankiet jest wypełniony płynem pod zwiększonym ciśnieniem, uciskając szyję pęcherza imituje aparat zwieraczowy cewki moczowej. Gdy pacjent czuje potrzebę oddania moczu, uciska pompkę, co powoduje przepływ płynu z mankietu do zbiornika, zwalniając ucisk wokół szyi pęcherza. Dzięki temu możliwe jest swobodne oddanie moczu. Po około dwóch minutach płyn samoistnie przepływa ze zbiornika do mankietu, ponownie zaciskając się wokół cewki. Schemat urządzenia po implantacji przedstawiono na Ryc. 2a i 2b.⁵



Ryc. 2. AUS w a- żeńskich⁸ i b- męskich drogach moczowych⁹ według EAU Patients Information.

3.1. Implantacja AMS 800

Jest kilka metod wszczepiania AMS 800. Wybór konkretnej i najbezpieczniejszej dla pacjenta w dużej mierze zależy od chirurga. U obu płci AUS można wszczepić wokół szyi pęcherza w przypadku pęcherza neurogennego lub wokół opuszkowej cewki moczowej u mężczyzn po radykalnej prostatektomii.³

Jednym ze sposobów wszczepiania AUS u mężczyzn i jednocześnie "złotym standardem" jest nacięcie podłużne krocza (ang. *perineal*) i umieszczenie mankietu wokół szyi pęcherza. Balon z regulatorem ciśnienia umieszcza się obok pęcherza w przestrzeni załonowej przez powierzchowny pierścień pachwinowy, nad powięź poprzeczną, zaś pompkę i połączenia - w mosznie. Balon z regulatorem i pompkę umieszcza się przez oddzielne nacięcie nadłonowe.^{10,11} Drugim najczęstszym sposobem implantacji jest zabieg z dostępem prąciowo-mosznowym (ang. *penoscrotal*). Przez poprzeczne nacięcie tej okolicy, preparuje się przez błonę kurczliwą cewkę moczową tak długo, aż mięsień opuszkowo-gąbczasty będzie widoczny na co najmniej centymetr. Wokół tak wypreparowanej cewki wprowadza się mankieta, balon jest umieszczany w przestrzeni załonowej w przestrzeni Retziusa, zaś pompka w mosznie.¹²

Porównując metody wszczepiania AUS metodą przezkroczową i prąciowo-moszną można stwierdzić, iż ta pierwsza niesie znacznie mniejsze ryzyko dyslokacji urządzenia i erozji w toku użytkowania. Natomiast porównując przypadki przyczyn wymiany/usunięcia AUS, w metodzie przezkroczowej dominowały infekcje (39%), a prąciowo-mosznej - erozje (32%).¹³

Kolejną techniką implantacji jest wszczepianie przezkroczowe podwójnego mankieta. Zasada implantacji jest taka jak w standardowej metodzie przezkroczowej z tym, że drugi mankieta umieszczany jest dystalnie do pierwszego mankieta. Niesie to za sobą szczególne utrudnienia, gdyż ciało gąbczaste jest cieńsze w dystalnej części opuszki cewki, co zwiększa ryzyko powikłań pooperacyjnych, zwłaszcza nadżerek.¹⁴

U kobiet zabieg zaczyna się od nacięcia w podbrzuszu, aby umieścić balon, następnie zakłada się mankieta wokół szyi pęcherza. W kolejnym etapie umieszcza się pompkę w wargach sromowych, po czym łączy się poszczególne elementy w całość. Zarówno u kobiet jak i mężczyzn, AUS jest otwarty przez kilka tygodni po zabiegu. Następnie, gdy pacjent dojdzie do siebie po zabiegu, lekarz w przychodni pierwszy raz go zamyka i potem już może robić to pacjent.⁸

3.2. Wskazania i przeciwwskazania do wszczepienia AMS 800

Głównym wskazaniem do wszczepienia AUS AMS 800 jest nieuleczalne nietrzymanie moczu, spowodowane niewydolnością zwieracza. Blisko 90% wszystkich wszczepień AUS dotyczy mężczyzn po radykalnej prostatektomii. Pęcherz neurogenny i wrodzony defekt funkcjonowania zwieracza moczowego stanowi drugą najczęstszą grupę chorych ze wskazaniem do tego zabiegu, zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet oraz dzieci. Hiperrefleksja wypieracza (parcie nagłące i nietrzymanie moczu z parcia) predysponuje do zastosowania dwóch metod jednocześnie- implantacji AUS i augmentacyjnej cystoplastyki pęcherza moczowego.³

Jeżeli pacjent ma wskazania do wszczepienia AUS pozostaje jeszcze sprawdzenie, czy taki zabieg będzie dla niego bezpieczny. W tym celu wykonuje się test urodynamiczny, żeby sprawdzić cewkę moczową i pęcherz. Analizując dane dotyczące postępowania klinicznego w nietrzymaniu moczu u kobiet można zauważyć, iż wszczepianie u nich AUS nie znalazł dużego zastosowania, z wyjątkiem ciężkich wrodzonych defektów zwieracza.³

Przeciwwskazania do zastosowania AUS obejmują sytuacje, gdy:

- lekarz prowadzący stwierdzi, iż pacjent nie jest na tyle sprawny, by samodzielnie sterować urządzeniem,
- nie można zastosować u danego pacjenta znieczulenia lub/i zabiegu chirurgicznego,
- istnieje odporna na wszelkie sposoby terapeutyczne nadreaktywność wypieracza lub niestabilność pęcherza moczowego,
- istnieje nadwrażliwość na ryfampicynę, chlorowodorek minocykliny lub inne tetracykliny,
- pacjent cierpi na toczną rumieniowatą układową
- istnieją doniesienia, że choroba zaostrza się pod wpływem chlorowodoru minocykliny, który tworzy powłokę antybiotykową na mankcie i pompce w wersji InhibiZone.^{3, 14}

3.3. Ryzyko i powikłania

Przed operacją lekarz zleca badania kontrolne w celu wykrycia ewentualnej infekcji. Chcąc zwiększyć szanse na powodzenie implantacji pacjent powinien dbać, aby nie doszło do zakażenia cewki moczowej przed zabiegiem. Dodatkowo w celu zmniejszenia ryzyka powikłań pooperacyjnych, powinno

się przede wszystkim zwrócić uwagę na dobranie odpowiedniej wielkości mankietu i adekwatnej wielkości balonu. Ponadto, jeśli taki pacjent przebył zabieg radykalnej prostatektomii, powinien mieć ustabilizowany stan dróg moczowych, dlatego w tej sytuacji nie należy zbyt szybko decydować się na implantację AUS. Bardzo istotnym warunkiem powodzenia zabiegu jest upewnienie się, czy pacjent nie ma zwężenia cewki, nadaktywności mięśnia wypieracza lub zaburzeń pojemności pęcherza. W kwestii tego ostatniego, jeśli chory ma zmniejszoną pojemność pęcherza moczowego zabieg odkłada się, zalecając przy tym ćwiczenie pęcherza, poprzez przytrzymywanie coraz większych ilości moczu. W przypadku nadaktywności wypieracza, przed operacją należy zastosować terapię antymuskarynową.⁵

Podczas zabiegu również mogą wystąpić okoliczności, które wymuszają na chirurgu modyfikację planu implantacji lub nawet jej przerwanie. Jednym z możliwych powikłań jest uszkodzenie ściany cewki moczowej - jeśli uszkodzeniu uległa część opuszkowa, najbezpieczniejszym byłoby przerwanie operacji i ewentualnie zaplanowanie drugiego podejścia do zabiegu za kilka miesięcy. Natomiast gdy mówimy o cewce sterczowej, można plan operacji zmodyfikować, zakładając mankiety wokół prostaty. Uszkodzenie cewki, nie tylko utrudnia implantację AUS, ale także wiąże się z powikłaniami pooperacyjnymi. Podrażniona cewka staje się obrzęknięta, więc po usunięciu cewnika, światło cewki jest znacznie zredukowane, co utrudnia odpływ moczu z pęcherza. W takiej sytuacji należy pacjenta zacewnikować ponownie. W przypadku braku szybkiej poprawy oraz gdy ściana cewki moczowej nie będzie się regenerowała pomimo obecności cewnika, należy wykonać przezskórnie przetokę nadłonową.⁵

Zdarza się, że powikłania związane z wszczepionym AUS wymagają wtórnej operacji w celu usunięcia lub wymiany urządzenia. W wyniku przeprowadzonego przez Boswella i wsp. badania, obserwowano 1154 mężczyzn, z których 404 wymagało wtórnej operacji. Określono procentowy rozkład poszczególnych powikłań będących przyczynami wtórnego zabiegu. Wyróżniono: awarię mechaniczną (39%), atrofie (26%), erozje i infekcje (25%), nieprawidłowe położenie pompy i inne przyczyny (11%). Erozja cewki lub szyi pęcherza wynika z niedokrwienia i atrofii tkanek w wyniku długotrwałego ucisku mankietem. Erozja cewki umożliwia ponowne wszczepienie AUS, ale po kilkumiesięcznej przerwie, aż tkanki objęte erozją się zregenerują.¹⁵

3.4. Zastosowanie u dzieci

Zastosowanie AUS u dzieci, zwłaszcza u najmłodszych, jest ograniczone przez trudność w samodzielnym użytkowaniu przez nie urządzenia AMS 800. Z tego powodu, AUS wszczepia się dopiero w wyjątkowych sytuacjach, takich jak przepuklina oponowo-rdzeniowa, agenezja kości krzyżowej oraz zespół wierzchniactwa. Nadreaktywność wypieracza lub mała pojemność pęcherza towarzyszące nietrzymaniu moczu, mogą być wskazaniem do jednoczesnej lub wcześniejszej augmentacyjnej cytoplastyki pęcherza. Należy jednak pamiętać, że taki zabieg zwiększa ryzyko rozwoju infekcji.³

Analizując te przypadki, gdzie wszczepienie AUS było wskazane, statystyki poprawy jakości życia nie ustępują badaniom na dorosłych i również u dzieci opanowanie nietrzymania moczu z pomocą AUS sięga około 90%.³

4. Różne rodzaje sztucznych zwieraczy cewki moczowej

AMS 800 jest złotym standardem wśród sztucznych zwieraczy cewki moczowej. Jednak od momentu jego wdrożenia w życie, prowadzono wiele badań i doświadczeń w celu ulepszenia tej metody leczenia NTM. Badania nad modyfikacją AMS 800 dotyczyły przede wszystkim opracowania urządzenia jednozespołowego, aby nie trzeba było łączyć poszczególnych podzespołów w trakcie operacji. Ważne okazało się również opracowanie mechanizmu, który regulowałby ciśnienie w zależności od indywidualnych potrzeb pacjenta, zamiast ustalania teoretycznie najlepszego ciśnienia w mankiecie przed operacją.¹⁶

Opracowane urządzenia są stosunkowo młodymi AUS, przez co nie ma jeszcze odpowiedniej ilości badań, które pozwoliłyby stwierdzić, czy są lepsze od AMS 800. Jednak nie ulega wątpliwości, iż obszar badań nad AUS jest wciąż otwarty i wraz z rozwojem technologicznym pozwoli na opracowanie jak najlepszego sztucznego zwieracza, minimalizując ryzyko powikłań. Najważniejsze nowatorskie AUS przedstawiono w Tabeli 1.¹⁶

Tabela 1. Zestawienie dostępnych AUS, [opracowanie własne]¹⁶

Nazwa	Producent	Skład urządzenia	Cechy urządzenia
AMS 800	American Medical Systems	3 podzespoły, 3 części: balon, pompka, mankiet	“złoty standard” leczenia NTM; powłoka antybiotykowa InhibiZone; odporne na zagięcia przewody
FlowSecure	Barloworld Scientific Limited	1 zespół, 4 części: mankiet, 2 balony (regulujący ciśnienie i zwalniający napięcie), pompka	Urządzenie jednozespołowe eliminuje konieczność łączenia elementów w polu operacyjnym; możliwość dostosowania ciśnienia po operacji
Zephyr ZSI 375	Zephyr Surgical	1 zespół, 2 części: Zbiornik regulujący ciśnienie, mankiet	Możliwość regulacji ciśnienia mankieta poprzez wstrzyknięcie/ pobranie płynu do zbiornika regulującego; brak trzeciego elementu w przestrzeni załonowej zmniejsza ryzyko uszkodzenia pęcherza lub przemieszczania urządzenia
Zwieracz okołocewkowy	Silimed	2 zespoły, 2 części: mankiet, samouszczelniający się port	Stworzony w celu leczenia dzieci z dysfunkcją zwieracza cewki – okazał się równie skuteczny u dorosłych; brak konieczności uciskania pompki przed oddaniem moczu; duże ryzyko powikłań
ProAc	Uromedia Inc.	2 zespoły, części: 2 balony silikonowe – na końcu bliższym i port tytanowy na końcu dalszym	Stworzony w celu leczenia wysiłkowego NTM u kobiet – okazał się równie skuteczny u mężczyzn; brak okrężnego ucisku na cewkę, niski odsetek powikłań

4.1. Nowości w temacie AUS

Jak wspomniano wcześniej, przez wiele lat implantacja AMS 800 wymagała dwóch nacięć. Jednak, gdy eksperymentalnie dokonano dostępu do opuszkowej cewki przez mosznę, zauważono, że efekt był taki sam, czas zabiegu krótszy, a powikłania rzadsze, przy czym najbezpieczniejszym sposobem jest powierzchowne umieszczenie balona przednio do powięzi poprzecznej i bocznie do mięśni brzucha. Udogodniony dostęp wykorzystano do jednoczesnej implantacji protezy prącia AMS 700 u pacjentów z impotencją i nie-
trzymaniem moczu po radykalnej prostatektomii, wspólnie tworząc technikę AMS 1500.³

Niemiecki sztuczny system zwieraczowy (ang. *German Artificial Sphincter System*, GASS) jest pierwszym AUS sterowanym zdalnie. Tworzą go ceramiczne elementy piezoelektryczne zbudowane z ferroelektryku i kwarcu, które pod

wpływem wysokonapięciowego pola elektrycznego ulegają polaryzacji, przez co płyn się przemieszcza regulując napięcie mankietu. Został on opracowany w celu leczenia nietrzymania stolca. Pierwsza wersja wywierała duże napięcie, jednak projekt ulepszono tworząc GASS II, eliminując ten problem i czyniąc go bezpieczniejszym. Dzięki tej modyfikacji z powodzeniem można go stosować w leczeniu nietrzymania moczu, jednak literatura na temat jego skuteczności czy wyższości nad AMS 800 jest jeszcze zbyt uboga, by móc wyciągnąć odpowiednie wnioski.¹⁶

Taśmowe mechaniczne urządzenie do zamykania cewki (ang. *Tape mechanical occlusive device*, TMOD) to jednoczęściowy AUS zbudowany z taśmy zamykającej i zbiornikowej, które są wykonane z mikroporowatego politetrafluoroetyleny (PTFE) oraz z mechanizmu kontrolującego pokrytego silikonową powłóczką. Z uwagi, iż nie jest to urządzenie hydrauliczne, nie wymaga wszczepiania balonu regulującego ciśnienie. Taśmy są naprężane za pomocą sprężyny ze stopu kobaltu i chromu, która znajduje się w mechanizmie kontrolującym. Posiada on włącznik i wyłącznik - gdy jest włączony taśma jest zwarta i wytwarza promieniście ciśnienie na cewkę, w efekcie ją zamykając. Urządzenie to było testowane tylko na zwierzętach, a co do ewentualnej skuteczności u człowieka zdania są podzielone. Z jednej strony wąska taśma wokół cewki może zmniejszyć obszar ewentualnej erozji, natomiast z drugiej, ucisk jest kumulowany na węższym obszarze, co zwiększa prawdopodobieństwo jej uszkodzenia.¹⁶

Trwają także prace nad urządzeniami opartymi o nanotechnologie, które miałyby naśladować funkcjonowanie żywego organu. Jednym z nich są stopy metali z pamięcią kształtu (ang. *shape memory alloys*, SMA), które wywierają przeciwny efekt w zależności od temperatury. Niska temperatura (faza martenzytu) wywołuje dostosowanie się materiału do kształtu macierzystego, zaś wyższa (faza austenitu) zbija i usztywnia strukturę.¹⁶

Szwajcarska firma NanoPowers S.A. opatentowała urządzenie działające na opisanej wyżej zasadzie. Posiada ono trzy lub cztery zespoły ułożone wzdłuż cewki moczowej po obu jej stronach i naprzemiennie wytwarza ciśnienie (indywidualnie ustawione przez chirurga), po czym je redukuje, na zasadzie działania pianina. Zapewnia to falowe ukrwienie tkanek oraz zapobiega ich atrofi. Innym przykładem z działy nanotechnologii są elektrycznie aktywne polimery (ang. *electrically activated polymers*, EAP). Urządzenie składa się z dwóch elektrod i polimeru między nimi, będącego izolatorem. Taki polimer się rozciąga i kurczy, w zależności od przyłożonego napięcia, w ten sposób imitując działanie zwieracza.¹⁶

5. Podsumowanie

Analizując wyniki badań statystycznych stosowania AUS, można stwierdzić, iż poprawę jakości życia zgłosiło około 90% pacjentów badanych. Pomijając problem powikłań, pacjenci zgłaszali zadowolenie na przestrzeni nawet około 10 lat. Niewątpliwie wynalezienie i opatentowanie AMS 800 zmieniło życie tysięcy ludzi, którzy zmagali się z nietrzymaniem moczu. Rozwój technologiczny w przyszłości daje wiele możliwości na redukcję powikłań i ułatwienie użytkowania.^{5,3,15}

Referencje

1. WHO. Integrated care for older people (ICOPE) Guidelines on community-level interventions to manage declines in intrinsic capacity. WHO 2017.
2. GOV. Nie tylko kobiecy problem. Red. Centrum e-zdrowia. GOV 2020.
3. H. L. Ratan, D. J. Summerton, S. K. Wilson, T. R. Terry. Development and Current Status of the AMS 800 Artificial Urinary Sphincter. *eau-ebu update series* 4 (2006) 117–128
4. F.E.B. Foley. An Artificial Sphincter: A New Device and Operation for Control of Enuresis and Urinary Incontinence. *J urol.* 1947; 58(4):250-9
5. T. Szopiński, P. Chłosta, A. Borówka. Wyniki leczenia nietrzymania moczu z użyciem sztucznego zwieracza cewki moczowej. *Postępy Nauk Medycznych* 25.4 (2012).
6. A. Schröder, P. Abrams (Co-Chairman), K-E. Andersson, W. Artibani, C.R. Chapple, M.J. Drake, C. Hampel, A. Neisius, A. Tubaro, J.W. Thüroff (Chairman). Zasady postępowania u chorych z nietrzymaniem moczu. Europejskie Towarzystwo Urologiczne. Guidelines on Incontinence 2010.
7. T. Drewa, K. Juszczak. Urologia Ilustrowany podręcznik dla studentów i stażystów. PZWL Wydawnictwo Lekarskie. Warszawa 2018 Wyd I

8. Doroczny Kongres EAU 2019. Artificial Urinary Sphincter implantation in women. Patient information.
9. Doroczny Kongres EAU 2019. Artificial Urinary Sphincter implantation in men. Patient information.
10. C. Sacomani, S. Zequi, W. Costa i in. Long-term results of the implantation of the AMS 800 artificial sphincter for post-prostatectomy incontinence: a single-center experience. *Int Braz J Urol* . 2018;44(1):114-120. doi:10.1590/S1677-5538. IBJU.2017.0165
11. S.K. Wilson i in. New surgical technique for sphincter urinary control system using upper transverse scrotal incision. *The Journal of urology* 169.1 (2003): 261-264.
12. C. Jamaer, H. De Bruyn, A. Van Renterghem, E. Baten, K. Van Renterghem. Penoscrotal Incision for the Primary Implantation of an Artificial Urinary Sphincter. *Curr Urol* 2020; 14:74-78. doi: 10.1159/000499256
13. A. Kretschmer, T. Hüscher, F. Thomsen i in., Complications and Short-Term Explantation Rate Following Artificial Urinary Sphincter Implantation: Results from a Large Middle European Multi-Institutional Case Series, *Urol Int* 2016;97:205–211 DOI: 10.1159/000446351, *Urologia Internationalis*
14. AMS 800™ Urinary Control System For Male Patients, Instruction for use
15. T.C. Boswell, D.S. Elliott, L.J. Rangel, B.J. Linder. Long-term device survival and quality of life outcomes following artificial urinary sphincter placement. *Transl Androl Urol*. 2020 Feb;9(1):56-61. doi: 10.21037/tau.2019.08.02. PMID: 32055467; PMCID: PMC6995928.
16. Ł. Zapała, T. Pawlin, A.A. Antoniewicz, Sztuczne zwieracze cewki moczowej- co nowego? Rozwój metod alternatywnych dla obecnie stosowanego zwieracza AMS 800. *Przegląd Urologiczny* 2013/5 (81)

METODY LECZENIA KELOIDÓW - PRZEGLĄD LITERATURY

AGNIESZKA SAWINA, AGNIESZKA NOWOTARSKA, JULIA GAWRON,
MICHALINA MASTERNAK, TOLA KOTKIEWICZ, TOMASZ FURGOŁ

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

Abstrakt:

Celem tejże pracy jest przybliżenie innowacyjnych metod leczenia bliznowców. Naturalnym następstwem każdego urazu - naruszenia powłoki skórnej - jest powstanie blizny. Blizna może jednak rozwijać się na różne sposoby, jedną z patologicznych odmian jest rozrost tkanki bliznowatej i powstanie bliznowca, czyli keloidu, u osób predysponowanych. Ta twarda, stanowiąca defekt estetyczny tkanka nie wykazuje tendencji do samoistnego ustępowania, leczenie natomiast jest bardzo czasochłonne i wymaga, zarówno od lekarza jak i pacjenta cierpliwości, tak aby znaleźć metodę indywidualnie dopasowaną do chorego. Keloidy różnie reagują na leczenie w zależności od osoby. Medycyna oferuje pacjentom nowe metody, które mają na celu zmniejszenie objętości bliznowców oraz zahamowanie ich rozrostu. Nowością w tym zakresie jest zastosowanie innowacyjnych metod usuwania chirurgicznego keloidów połączonych z terapią skojarzoną. Aktualne oraz potencjalne formy leczenia tych zmian skórnych ciągle ulegają uaktualnianiu, gdyż stale prowadzone są badania nad skutecznością terapii keloidów występujących w różnych miejscach, grupach wiekowych, a także chorych pochodzących z różnych ras, co daje szeroki pogląd na problem. Wykorzystanie technik wiąże się z nadzieją na leczenie, które przyniesie pacjentowi ulgę zarówno w zakresie estetycznym, psychicznym jak i zapewni pełny zakres ruchów.

Słowa kluczowe: tkanka bliznowata, keloidy, metody leczenia

Abstract:

The aim of this study is to present innovative methods of keloid treatment. A natural consequence of any injury - breach of the skin - is the formation of a scar. However, a scar can develop in various ways, one of the pathological varieties is the growth of scar tissue and the formation of a keloid in predisposed individuals. This hard tissue, constituting an aesthetic defect, does not show a tendency to spontaneously resolve, but the treatment is very time-consuming and requires patience from both the doctor and the patient in order to find a method individually tailored to the patient. Keloids respond differently to treatment depending on the person. Medicine offers patients new methods aimed at reducing the volume of keloids and inhibiting their growth. A novelty in this regard is the use of innovative methods of surgical removal of keloids combined with combination therapy. The current and potential forms of treatment of these skin lesions are constantly being updated, as research on the effectiveness of the therapy of keloids occurring in different places, age groups, and patients of different races is constantly being carried out, which gives a broad view of the problem. The use of techniques is associated with the hope for a treatment that will bring the patient both aesthetic and mental relief and will provide a full range of movements.

Keywords: scar tissue, keloids, treatment methods

1. Wstęp

Skóra to narząd układu powłokowego składający się z wielu warstw tkanki ektodermalnej działającej jak bariera chroniąca leżące pod nią kości, nerwy, mięśnie i narządy wewnętrzne, stanowi ona pierwszą linię obrony przed czynnikami zewnętrznymi. Właściwą reakcją organizmu, następującą po uszkodzeniu tkanek, jest proces naprawczy prowadzący do odtwarzania ciągłości powłoki skórnej w celu utrzymania homeostazy organizmu¹⁻⁴. Cykl ten składa się z następujących po sobie faz: zapalnej, proliferacyjnej oraz przebudowy, czego skutkiem jest powstawanie blizny - tkanki zastępczej. Powstawanie blizn to proces naturalny, fizjologiczny, złożony i ściśle regulowany element procesu gojenia się ran. Czasami jednak proces naprawczy nie toczy się prawidłowo, zaburzone zostają mechanizmy fizjologiczne, które odpowiedzialne są za regulację równowagi podczas naprawy i regeneracji tkanek oraz wykazuje on zbyt dużą intensywność^{4,5}. Powstała w ten sposób blizna jest nieprawidłowa, przerośnięta, co może skutkować powstaniem keloidu (bliznowca), który klasyfikować można jako łagodny nowotwór tkanki łącznej oraz zaliczyć do chorób fibroproliferacyjnych, które przebiegają z włóknieniem^{8,9}. Zaburzenia wydzielania przez komórki cytokin, enzymów proteolitycznych, które prowadzą do degradacji składników macierzy pozakomórkowej (ECM (ang. *extracellular matrix*)) są przyczyną postawia keloidów. Przerwanie ciągłości naskórka, nadmierna synteza macierzy pozakomórkowej oraz jej nieprawidłowe remodelowanie również stają się przyczyną powstawania bliznowców^{1,3,6}. Te zmiany skórne są zazwyczaj szpecące oraz zajmujące powierzchnię przekraczającą pierwotny obszar urazu i atakują sąsiednie tkanki. Keloidy istnieją w postaci guzowatych, twardych tworów o wzmożonej spoistości, gładkiej i lśniącej powierzchni, charakteryzują się obecnością wypustek będących podobnymi do szczypców kraba (nazwa keloid wywodzi się od greckiego słowa *chelle*, oznaczającego właśnie szczypce kraba - podczas rozrostu zmiany powstają charakterystyczne wypustki)^{1,2}. Metody dostępnego leczenia keloidów dzieli się na te należące do leczenia nieinwazyjnego - są to maści, silikonowe żele, plastry silikonowe, taśmy sterydowe, werapamil, terapia kompresyjna, krioterapia, radioterapia, promieniowanie, imikwimod oraz mitomycyna C. Do leczenia inwazyjnego należą: leczenie chirurgiczne, sterydoterapia (kortykosteroidami), laseroterapia, interferony, toksyna botulinowa w izoformie A (BTXA), 5-Fluorouracyl, acetonid triamcyłonu, bleomycyna, inhibitory ACE, osocze bogatopłytkowe, terapia komórkami macierzystymi, inhibitory ACE, a także przeszczep tkanki tłuszczowej. Leczenie keloidów wymaga

od lekarzy obszernej wiedzy z zakresu metod leczniczych powszechnie stosowanych oraz tych dopiero wprowadzanych. Badania, które są prowadzone obecnie dążą do znalezienia innowacyjnych metod mających na celu bezpośrednie hamowanie procesu fibroproliferacyjnego poprzez modulowanie ekspresji cytokin, hamowanie proliferacji fibroblastów, czy regulowanie biosyntezy i degradacji składników macierzy pozakomórkowej^{8,10,11}. Bliznowce mogą wpływać zarówno na wygląd estetyczny, jak i upośledzać czynność tkanek, są również częstym powodem kompleksów w takim samym stopniu kobiet, jak i mężczyzn, co przyczynia się do powstania stresu psychicznego, utraty pewności siebie i poczucia własnej wartości głównie gdy keloid obejmuje miejsce widoczne, takie jak twarz czy szyja¹². Ważnym aspektem jest odpowiednie dobranie metody leczenia, gdyż będzie miało to skutek w zamierzonych efektach.

Rycina 1. Na rycinie przedstawiono keloidy zlokalizowane na kończynie górnej



Źródło zdjęć: <https://ohme.pl/zdrowie/bliznowiec-przyczyny-wyglad-leczenie/>; <https://gemini.pl/poradnik/zdrowie/co-to-jest-bliznowiec/>

2. Epidemiologia, etiopatogeneza, obraz histopatologiczny keloidów

Keloidy występują u 1,5–4,5% populacji na świecie i dotyczą wszystkich ras ludzkich, z większą częstością znajdują się jednak u osób posiadających fototyp V oraz VI według skali Fitzpatricka (4–16%)^{1,5}. Powstawanie bliznowców związane mocno jest z pigmentacją skóry, warto zauważyć, iż ryzyko rozwoju keloidów u osób z ciemną skórą jest około 15 razy wyższe niż u osób ze skórą jasną, natomiast u albinosów keloidy nie powstają⁵. Zmiany te występują z taką samą częstością u kobiet, jak i u mężczyzn, lecz niektóre badania wskazują, że keloidy częściej można spotkać się u kobiet, co związane jest z faktem, iż kobiety chętniej wybierają zabiegi estetyczne, które ingerują w strukturę skóry np. przekłuwanie uszu oraz częściej zwracają uwagę na swój wygląd i zgłaszają się do lekarza z problemami skórnymi^{5,13}. Ważną rolę w patogenezie bliznowców odgrywają czynniki genetyczne, urazy skóry, do których

możemy zaliczyć oparzenia, zabiegi chirurgiczne, piercing, tatuaże, szczepienia ochronne, trądzik, czy reakcje alergiczne (u takich pacjentów wykazano związek komórek tłuszczowych z nieprawidłowym przebiegiem bliznowacenia), a nawet i ukąszenie owada^{1-5, 8, 23}. Upośledzone zdolności komórek do apoptozy, nieprawidłowa ekspresja niektórych genów i białek niezbędnych w procesie gojenia się ran również bierze udział w powstawaniu keloidów. Stan zapalny w obrębie rany, ciąża, okres dojrzewania, czy upośledzenie układu immunologicznego związane są również z podwyższonym ryzykiem powstania tych zmian skórnych^{24, 25, 31}. Na rozwój bliznowców narażone są w szczególności młode osoby (między 10 a 30 rokiem życia) będące bardziej wystawione na urazy, a ich skóra wykazuje wysokie napięcie. Częstym miejscem rozwoju keloidu są płatki małżowin usznych, podbródek, szyja, ramiona, okolica mostka i stawów, czyli miejsca, w których skóra jest bardziej napięta. Bliznowce nie występują jednak na wewnętrznej powierzchni dłoni, podszewkach stóp oraz błonach śluzowych^{11, 13, 15}. Mogą one powstać kilkanaście tygodni po wygojeniu się urazu, a nawet i kilka lat od uszkodzenia skóry. Rodzinne występowanie keloidów sprawia, iż można stwierdzić, że istnieją uwarunkowania genetyczne związane z predyspozycją do formowania się takich zmian chorobowych. Najprawdopodobniej predyspozycje te dziedziczone są wielogenowo, autosomalnie dominująco lub recesywnie, z niepełną penetracją genu i różnorodną ekspresją. Dziedziczenie połączone jest również z genami odpowiedzialnymi za układ immunologiczny. Występowanie keloidów koreluje z antygenami zgodności tkankowej klasy I i II (HLA-B14, HLA-B21, HLA-Dw16, HLA-Dw35, HLA-DR5, HLA-DQW3), grupą krwi A, podwyższonym poziomem IgE w surowicy, ogólną nadwrażliwością układu odpornościowego i występowaniem chorób autoimmunologicznych^{1, 2, 32-35}. Obecność bliznowców można stwierdzić także w wielu chorobach genetycznych zależnych od nieprawidłowego funkcjonowania tkanki łącznej, takich jak progeria, sklerodermia, zespół Rubinstein-Taybi, zespół Ehlersa-Danlosa i choroba Hashimoto⁵. Warto również zauważyć, że pochodząca od człowieka neandertalskiego transwersja g.50318299T>G (rs35455589) genu HYAL2 kodującego hialuronidazę typu 2 występuje z niską częstością w genomie współczesnych Polaków, co oznacza iż nie istnieje związek pomiędzy pochodzącą od człowieka neandertalskiego transwersją g.50318299T>G genu HYAL2 a predyspozycją do bliznowca.

3. Gojenie się ran a powstawanie keloidów

Blizny to wynik urazów skóry właściwej, kształtują się one w fazie gojenia się ran. Gojenie się wykształcone zostało przez miliony lat rozwoju filogenetycznego człowieka. Podczas tego procesu mają miejsce złożone reakcje chemiczne biologicznie aktywnych substancji, a także zjawiska fizyczne np. wzrost wytrzymałości na rozciąganie i zmiany sprężystości skóry. Zostały wyróżnione następujące fazy: oczyszczania (trwająca 1-4 dni); przebudowy (po około czterech dniach następuje odrost nabłonka, naczyń i nerwów oraz migracja komórek); obkurczania i wytwarzania blizny (między szóstym a dziesiątym dniem od urazu zachodzi synteza i uporządkowanie się kolagenu). Gojenie się ran składa się z szeregu procesów fizjologicznych następujących po sobie bądź przebiegających równocześnie, są to: pobudzenie fibroblastów i naczyń włosowatych oraz wytwarzanie nowych włókien kolagenowych^{4,5,20-23,26}. Proces ten jest odpowiedzią na czynnik uszkodzający, to złożone zjawisko dynamiczne, którego fazy uzupełniają się, zależą one od populacji komórek, stanu aktywacji, charakteru interakcji z poszczególnymi częściami łóżyska rany. Pierwszą fazą jest zapalenie, drugą tworzenie nowej tkanki (procesy proliferacyjne), a trzecią przebudowa, czyli remodelowanie nowoutworzonej tkanki³⁰. Cytokiny wydzielane przez pobudzone komórki odpowiadają za natężenie odpowiedzi na uszkodzenie tkanek. Nieprawidłowe produkowanie cytokin przez komórki podczas gojenia się ran to podstawowe podłoże powstawania i rozwoju keloidów^{5,32,37}. Bliznowce charakteryzują się podwyższoną ekspresją TGF- β (transformujący czynnik wzrostu β (ang. transforming growth factor β)), PDGF (płytkopochodny czynnik wzrostu (ang. platelet-derived growth factor)), VEGF (czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (ang. vascular-endothelial growth factor)), TNF- α (czynnik martwicy nowotworów α (ang. tumor necrosis factor α)), CTGF (czynnik wzrostu tkanki łącznej (ang. connective tissue growth factor)), IGF (insulinopodobny czynnik wzrostu (ang. insulin-like growth factor)), IFN- β (interferon β (ang. interferon β)), NGF (czynnik wzrostu nerwów (ang. nerve growth factor)),

IL-6, (interleukina 6 (ang. Interleukin 6)) oraz IL-13 (interleukina 13 (ang. Interleukin 13))^{17-21,36-40}. Jednym z najważniejszych związków związanych z procesem gojenia się ran jest PDGF. Przyciąga on do rany neutrofile, monocyty z krwi, fibroblasty z otoczenia rany inicjujące proces zapalny. Fibroblasty te, pobudzone przez PDGF oraz inne czynniki wzrostowe produkujące ECM, są niezbędne do migracji keratynocytów z brzegów rany, epitelializacji powierzchni rany i tworzenia się blizn.

Tabela 1. Przedstawia kolejno następujące po sobie fazy gojenia się ran, ich czas, a także najważniejsze komórki, które biorą udział w tym procesie

Fazy gojenia się rany	Czas po urazie	Najważniejsze komórki biorące udział w fazie
Faza zapalna	1 godzina - 2 tygodnie	neutrofile, makrofagi
Faza proliferacyjna	3 - 4 tygodnie	limfocyty, fibroblasty, keratynocyty, komórki śródbłonne
Faza przebudowy	kilka miesięcy/lat	fibroblasty

3.1. Fazy gojenia się ran

Stan zapalny rozpoczyna się już w ciągu godziny po uszkodzeniu tkanki, tworzy miejscową reakcję zapalną. Prowadzi to do przekrwienia wokół uszkodzonych tkanek, zwiększenia przepuszczalności naczyń włosowatych, napływu neutrofilów, limfocytów i monocytów¹⁻⁵. Neutrofile nie tylko zapewniają kluczową ochronę przed drobnoustrojami atakującymi, lecz usuwają także patogeny oraz szczątki tkanek w ranie. Dochodzi do fagocytozy poprzez uwalnianie reaktywnych form tlenu (ROS)^{42,101}. Neutrofile pełnią kluczową funkcję w rekrutacji innych komórek zapalnych m.in. makrofagów, które pochodzą z monocytów. Makrofagi te stają się dorosłymi makrofagami poprzez obecność lokalnych cytokin takich jak interferon- γ (IFN- γ) oraz produktów bakteryjnych np. Lipopolisacharyd^{29-32,33}. Płytki krwi wydzielają czynniki obkurczające naczynia krwionośne, po czym powstaje skrzep. Dochodzi do chemotaksji i migracji białych krwinek do rany, a następnie do fagocytozy drobnoustrojów oraz tkanek nekrotycznych. Kolejnym etapem jest przekształcenia monocytów w makrofagi zdolne do wydzielania cytokin oraz do inicjacji procesów naprawczych^{4-6, 30-32}. Faza zapalna trwa dwa tygodnie od momentu zadziałania czynnika uszkodzającego. Wydłużenie tej fazy ma dodatkowe znaczenie w patofizjologii keloidów, gdyż podtrzymuje procesy fibroproliferacyjne^{24,25}. W chorobach fibroproliferacyjnych faza zapalna najczęściej poprzedza włóknienie lub procesy te przebiegają równolegle^{5,12}. Syntezowane i wydzielane mediatory stanu zapalnego odgrywają istotną rolę.

Makrofagi M2 są odpowiedzialne za przejście do fazy proliferacyjnej podczas procesu gojenia się ran, ponieważ uwalniają one czynniki wzrostu, takie jak VEGF, PDGF i TGF- β . Wspomagają one angiogenezę, reepitelizację oraz produkcję kolagenu^{15,16,21}. Ziarninowanie i bliznowacenie prowadzi do przekształcenia nieodróżnionych komórek mezenchymatycznych i fibrocytów w fibroblasty. Migrują one do rany, proliferują i syntetyzują składniki

ECM - kolageny, proteoglikany, fibronektynę i elastynę^{1,21,24,36}. Nowe naczynia krwionośne zostają utworzone podczas angiogenezy, dochodzi wtedy do proliferacji oraz migracji keratynocytów. Rozpoczyna się epitelializacja rany i transformacja fibroblastów w miofibroblasty będące odpowiedzialne za obkurczanie rany, czyli kontrakcję. Skurcz rany to niezbędny etap podczas gojenia się ran, zachodzi on przez działanie miofibroblastów, które są wyspecjalizowanymi komórkami kurczliwymi. Charakteryzują się one ekspresją α -aktyny mięśni gładkich. W miarę dojrzewania rany komórki te znikają³⁴⁻³⁶. Faza druga trwa od trzech do czterech tygodni po uszkodzeniu tkanki. CTGF produkowane w nadmiarze powoduje zmianę fenotypu komórek. Kluczowe stają się procesy fibroproliferacyjne prowadzące do wzmożonej produkcji kolagenu, fibronektyny i dekoryny^{15,16}. Zespół Khoo podczas swoich badań zauważył, że CTGF w obrębie keloidów ulega ekspresji nie tylko w fibroblastach, lecz także w keratynocytach. Remodelowanie macierzy pozakomórkowej składającej się głównie z kwasu hialuronowego i fibronektyny zachodzi już po pokryciu rany naskórkiem. Prowadzi do zmniejszenia ilości składników ECM, gęstości nowo powstałych sieci naczyń krwionośnych w wyniku apoptozy fibroblastów oraz komórek mikronaczyń podczas proteolitycznej degradacji przez proteazy^{9,16,17,22}.

Faza przebudowy jest równowagą między wytwarzaniem, rozpadem oraz przebudową ECM. Specyficzne jest zmniejszenie proliferacji komórek, apoptoza większości komórek śródbłónka, makrofagów oraz miofibroblastów, zastąpienie glikozaminoglikanów przez proteoglikany oraz kolagenu III przez kolagen I^{17,21}. Taka przebudowa skutkuje powstaniem blizny. Miofibroblasty szczególnie biorą udział w tej fazie. Obkurczają tkankę ziarninową, a włókna kolagenu typu I zostają usieciowane. Łączą się w pęczki ułożone prostopadle do brzegów rany, tak aby nadać jej maksymalną wytrzymałość na działanie czynników mechanicznych^{21,22,30}. Proces ten, będący już ostatnią fazą gojenia się ran, trwa do kilku miesięcy, a nawet lat od momentu zranienia.

W obrazie histologicznym bliznowców obserwuje się grube włókna kolagenowe typu I i III ułożone w sposób nieregularny do podłoża skóry. Zauważyć można również wzmożoną proliferację fibroblastów i komórek zapalnych, a także nagromadzenie składników ECM tkanki łącznej^{21,24,39}. Niewielkie naczynka keloidu są poroszerzane oraz chaotycznie rozrzucone, przez co unaczynienie jest upośledzone²². Nowo powstałe keloidy przybierają kolor sinoczerwony, jednak w miarę dojrzewania bledną. Często podczas fazy wzrostu towarzyszy im nadwrażliwość, ból, świąd i pieczenie. Wykazują brak skłonności do autonomicznego ustępowania oraz tendencję do recydywy po operacyjnym

usunięciu^{23,25,30}. Dojrzały bliznowiec wykazuje natomiast zmniejszoną liczbę komórek, naczyń krwionośnych. Składa się głównie z tkanki łącznej zbitej z widocznym wyraźnie zhialinizowanym kolagenem, nie można jednak zaobserwować włókien sprężystych^{35,36}. Cały proces powstawania keloidu rozpoczyna się od jego części centralnej, obserwując regresję fibroprolifracji, w kierunku obwodu zmiany. Cechą charakterystyczną jest aktywny wzrost.

Tabela 2. Przedstawia cechy charakterystyczne bliznowców

Cecha charakterystyczna bliznowca	Bliznowiec
Granice	Przekracza granice pierwotnej rany
Początek	Nawet do kilkunastu miesięcy od urazu
Samoistne ustępowanie	Nie występują
Rozległość blizny	Niewspółmierna do urazu
Odpowiedź na leczenie chirurgiczne	Początkowo zauważalna, lecz później często obserwuje się pogorszenie i nawrót keloidu
Wygląd	Szpecące, twarde o lśniącej powierzchni

4. Leczenie keloidów

Keloidy sprawiają duży problem terapeutyczny, ponieważ są one trudne do leczenia, pogorszenie oraz wzrost bliznowca są możliwe przy niepełnym pobraniu terapii, dlatego właśnie tak ważna jest profilaktyka oraz obserwacja rozwoju blizn^{10,11,37}. Istnieje wiele metod radzenia sobie z tymi zmianami skórnymi, a także są prowadzone badania nad innowacyjnymi technikami walki z problemem, jakim są bliznowce. Dostępne terapie wykorzystywane w celu zapobiegania i leczenia keloidów stale ulegają rozwojowi, wykorzystywanie nowatorskich strategii daje szansę na skuteczną walkę z keloidami⁴⁴⁻⁴⁶. Jednak jak dotąd ani jedna terapia nie jest powszechnie zatwierdzona jako złoty środek wykorzystywany do leczenia wszystkich bliznowców. Terapie skojarzone wykazują wyższą skuteczność przy jednoczesnym zmniejszeniu liczby skutków ubocznych w porównaniu z monoterapią^{43,50,53}. Kompleksowa ocena kliniczna i pełna historia medyczna są niezmiernie ważne przed wybraniem najlepszej formy leczenia dla pacjenta. Leczenie, które jest dobrze zaplanowane, dostosowane do określonych potrzeb chorego, jest niezbędne w celu uzyskania zadowalających wyników klinicznych^{50,52}. Niezmiernie ważna jest tutaj rola lekarza podczas edukacji pacjenta, zaznaczenie jak istotne jest samodzielne uczestnictwo i zdyscyplinowanie w opiece nad zmianą, a także przedstawienie

ewentualnych działań niepożądanych, które mogą wystąpić po zastosowaniu danej terapii. Regularne wizyty kontrolne są niezbędne, aby móc kontrolować ewentualny ból, świąd, czy stan zapalny występujący w obrębie keloidu i ewentualnie zapobiegać rozrostowi bliznowca, bądź jego nawrotom po usunięciu chirurgicznym⁵³⁻⁵⁶.

4.1. Metody leczenia bliznowców

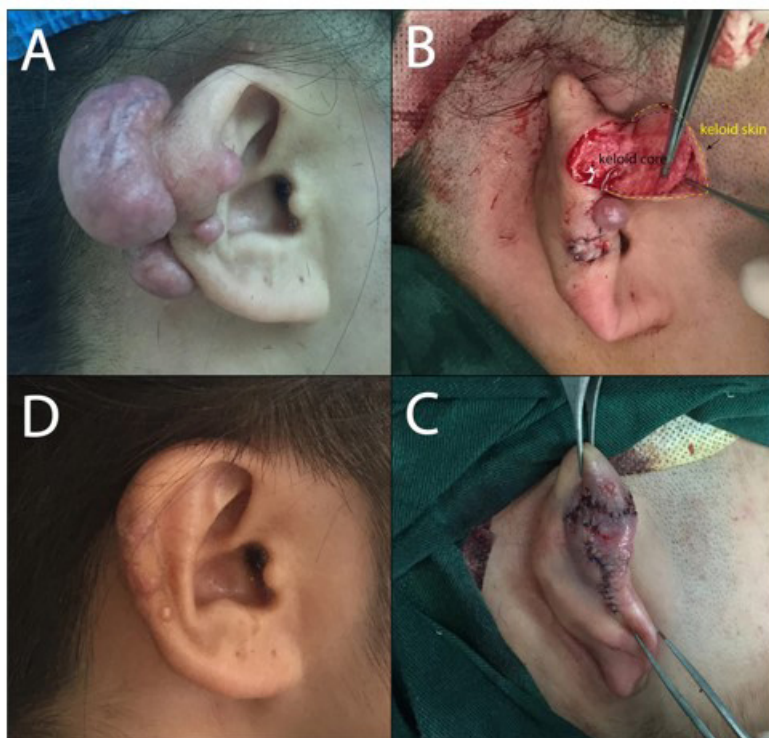
Techniki chirurgiczne

Chirurgiczne metody leczenia keloidów dotyczą wielu innowacyjnych technik rekonstrukcyjnych wykazujących obniżoną częstość nawrotów. Proste pełne wycięcie bliznowca jest rzadko wykorzystywane w formie monoterapii ze względu na wysoki odsetek nawrotów keloidów po usunięciu chirurgicznym, który wynosi od 45 do 100%, prowadzi to również do powstania nowej rany, z której w przyszłości może powstać podobny lub większy keloid^{52,61,64}. Przyczynę tego zjawiska stanowią niepełne marginesy chirurgiczne. Po całkowitym wycięciu keloidu ważne jest, aby delikatnie obchodzić się z tkanką, kontrolować infekcje, krwawienia, unikać napięcia łożyska rany, wywijania jej brzegów, a także dbać o staranne przybliżenie jej brzegów w celu zmniejszenia prawdopodobieństwa nawrotu bliznowca. Wolne od napięcia zamknięcie rany zmniejsza ryzyko nawrotu^{38,44,50,61}. Burm i wsp. opisali wykorzystanie przeszczepu skóry o pełnej grubości, gdy występował ubytek keloidu spiralnego z odsłoniętą chrząstką. Przeszczepy te zostały ułożone po usunięciu nabłonka łożyska rany 2 do 3 mm poza pierwotną granicę zmiany skórnej⁶⁴. Burm i wsp. spostrzegli brak nawrotu keloidu bez leczenia dodatkowego u wszystkich pacjentów z okresem obserwacji od dziewięciu miesięcy do sześciu lat. Pacjenci z tej grupy badanej wcześniej nie byli poddani leczeniu sterydami ani żadnemu zabiegowi wycięcia chirurgicznego bliznowca⁶⁴. Nguyen i wsp. badali wykorzystanie dwuwarstwowego systemu skórnej wymiany skóry, aby stworzyć neodermę z późniejszym przeszczepem naskórka dla keloidów opornych na leczenie. Pomimo braku zastosowania wspomagających metod leczenia wszyscy pacjenci nie zauważyli nawrotu bliznowca po okresie obserwacji od 38 do 60 miesięcy⁵⁸.

Chcąc otrzymać lepsze efekty pooperacyjne wycięcia keloidów, często wycięcie chirurgiczne łączone jest z różnymi innymi metodami leczenia, takimi jak - radioterapia, ostrzykiwanie doogniskowe kortykosteroidami, wstrzyknięcie IFN, bleomycyny, krioterapia, terapia ciśnieniowa bądź żele silikonowe⁴⁸⁻⁵⁰. Wybór metody chirurgicznego usunięcia bliznowca zależy od lokalizacji,

typu skóry, wielkości bliznowca i wieku pacjenta. Formy te dotyczą zamknięcia liniowego i pokrycia płata, wycięcie z przeszczepem, plastykę W i Z^{57,60-62}. Szwy założone na powierzchnią/głęboką powięź poniżej skóry właściwej wywołują naturalne łączenie brzegów rany, dzięki temu istnieje możliwość zakładania szwów skórnych z wyjątkowo małym napięciem, a następnie można zakładać szwy powierzchowne. Warto także zaznaczyć, że bez założenia szwów głębokich szwy skórne nie zmniejszają napięcia skóry, lecz mogą ją nawet zaostrić^{48,49,50,53}. Ostateczny wynik wyglądu blizny związany jest nie tylko z doświadczeniem chirurga, lecz również z zastosowaną techniką wycinania oraz aktywnym udziałem pacjenta w dbaniu o ranę po usunięciu bliznowca.

Rycina 2. Na rycinie przedstawiono wycięcie rdzenia bliznowca i plastykę płata blizny: A keloid przed operacją; B nacięcie w kształcie litery „C”; C natychmiast po operacji; D 12 miesięcy po operacji



Źródło: “Individualized surgery combined with radiotherapy and triamcinolone acetonide injection for the treatment of auricular keloids”

4.1.1 Skojarzone terapie chirurgiczne

Wycięcie chirurgiczne połączone z promieniowaniem

Operacja związana z radioterapią, która została wykonana w ciągu 24 godzin po wycięciu, w dawce nie mniejszej niż 12 Gray'a wiąże się ze średnim odsetkiem nawrotów keloidu wynoszącym 23% po 14 miesiącach od zabiegu. Chirurgiczne usunięcie połączone z promieniowaniem to terapia dopuszczalna, którą można zastosować po nieudanej reakcji na wycięcie z TAC^{34,52}. Istnieją jednak przeciwwskazania stosowania promieniowania u kobiet w ciąży, dzieci oraz osób cierpiących na chorobę nowotworową. Częstymi skutkami ubocznymi są hiperpigmentacja i hipopigmentacja^{66,67}. Ryzyko złośliwego nawrotu keloidu w tej terapii jest znikome, metoda jest zarówno skuteczna, jak i bezpieczna⁵².

Rycina 3. Na rycinie przedstawiono efekt wycięcia chirurgicznego bliznowca z wykorzystaniem radioterapii; Powyżej po lewej - przed operacją; powyżej po prawej - natychmiast po całkowitym wycięciu bliznowca; poniżej po lewej - natychmiast po zabiegu; poniżej po prawej - dwa lata po operacji



Źródło: "The Most Current Algorithms for the Treatment and Prevention of Hypertrophic Scars and Keloids: A 2020 Update of the Algorithms Published 10 Years Ago"

Wycięcie chirurgiczne z terapią ciśnieniową

Chirurgiczne usunięcie keloidu oraz zastosowanie terapii uciskowej jest doskonałym sposobem leczenia keloidów, które występują na uchu, anatomiczna lokalizacja bliznowca podatna jest na wykorzystanie urządzeń dopasowujących np. kolczyków uciskowych⁵². Pacjenci po wycięciu zmiany są zobowiązani do noszenia urządzenia ciśnieniowego, które często posiada magnes w celu skutecznej kompresji obszaru, w którym pierwotnie występował keloid. Ta metoda leczenia jest prosta, lecz mniej korzystna, gdy keloid zlokalizowany jest w innym miejscu niż ucho. W przypadku bliznowców występujących na uszach odsetek nawrotów wynosi 6,7%-10,6% w okresie obserwacji wynoszącym 18 miesięcy^{52,68}.

Wycięcie chirurgiczne oraz krioterapia

Wycięcie chirurgiczne, a następnie zastosowanie miejscowej krioterapii wykazuje godne zauważenia wyniki podczas leczenia keloidów usznych. Krioterapia miejscowa z użyciem kriosond jest stosowana natychmiast po chirurgicznym usunięciu bliznowca, aby uzyskać wartości impedancji 1000 KΩ^{52,60,69}. Wartość wymagana zazwyczaj jest osiągana podczas jednego cyklu zamrażania-rozmrażania, który trwa około 30 sekund. Kriosondy dobierane są w zależności od rozmiaru zmiany skórnej, tak by zapewnić równomierny rozkład i równomierne zamrożenie bliznowca. Odsetek nawrotów po wykonaniu tej terapii skojarzonej wynosi 15% z okresem obserwacji 43 miesiące⁶⁹. Terapia ta dla bliznowców obszerniejszych, znajdujących się w miejscach poza uchem może nie przynosić takich efektów, gdyż trudno jest skutecznie zamrozić większe obszary anatomiczne. Efektem niepożądanym jest hipopigmentacja^{60,69}.

Wycięcie chirurgiczne połączone z triamcynolem (TAC)

Połączenie tych dwóch technik wykazuje znaczne obniżenie nawrotów keloidów usznych w porównaniu z terapiami stosowanymi osobno. Metoda ta realizowana jest poprzez całkowite wycięcie z pierwotnym zamknięciem przy niskim napięciu i wstrzyknięciami TAC w tym samym dniu w stężeniu od 5 do 10 mg/ml⁶⁶. Pacjenci następnie co miesiąc poddawani są wstrzykiwaniu TAC przez okres od 4 do 6 miesięcy po wykonaniu zabiegu chirurgicznego usunięcia bliznowca. Udowodniono, że średni odsetek nawrotów keloidów wynosi 15,4% z okresem obserwacji od 12 do 35 miesięcy^{52,66}. Skutkami ubocznymi natomiast są hipopigmentacja oraz zanik skóry⁶⁶.

Wycięcie chirurgiczne z mitomycyną C (MMC)

Usunięcie chirurgiczne, a następnie miejscowe zastosowanie MMC jest wykorzystywane w leczeniu keloidów zlokalizowanych w różnych obszarach anatomicznych. MMC jest środkiem chemioterapeutycznym zmniejszającym wytwarzanie fibroblastów oraz hamuje on transkrypcję DNA do RNA tworząc wiązania krzyżowe DNA, a tym samym hamuje podział komórek⁴⁸. Po operacji podczas, której zostaje usunięty bliznowiec następuje zastosowanie gazy nasączonej MMC w dawce 1 mg/ml (nie większej, gdyż może to powodować niepożądane efekty uboczne), która nakładana jest na ranę na 3-5 minut, po trzech tygodniach od zabiegu MMC ponownie zostaje zastosowany. Odsetek nawrotów keloidów po takiej terapii wynosi średnio 16,5% przy okresie obserwacji 6 miesięcy⁵⁶. Warto zaznaczyć, iż MMC nie powinno być stosowane u kobiet w ciąży, gdyż substancja ta może prowadzić do uszkodzenia rozwijającego się płodu⁵⁶.

Wycięcie chirurgiczne oraz imikwimod

Zastosowanie miejscowe imikwimodu po chirurgicznym usunięciu keloidu daje trochę gorsze wyniki niż terapia połączona z wycięciem i zastosowaniem MMC⁵². Imikwimod to silny modulator immunologiczny stymulujący odpowiedź odpornościową za pomocą synergicznej aktywacji kilku różnych szlaków, stymuluje on także receptory Toll-podobne 7 i 8 w celu aktywacji czynnika jądrowego kappa B. Imikwimod wzmacnia ekspresję interferonu α i γ i interleukin 1,6,8 i 12⁶⁶. Po wykonanej operacji nakładany jest 5% krem z imikwimodem na noc przez sześć do ośmiu tygodni po wycięciu keloidu. Nawroty występują w 24,7%, przy okresie obserwacji 6 miesięcy⁵⁶.

4.1.2. Medyczne terapie skojarzone**TAC połączone z laseroterapią**

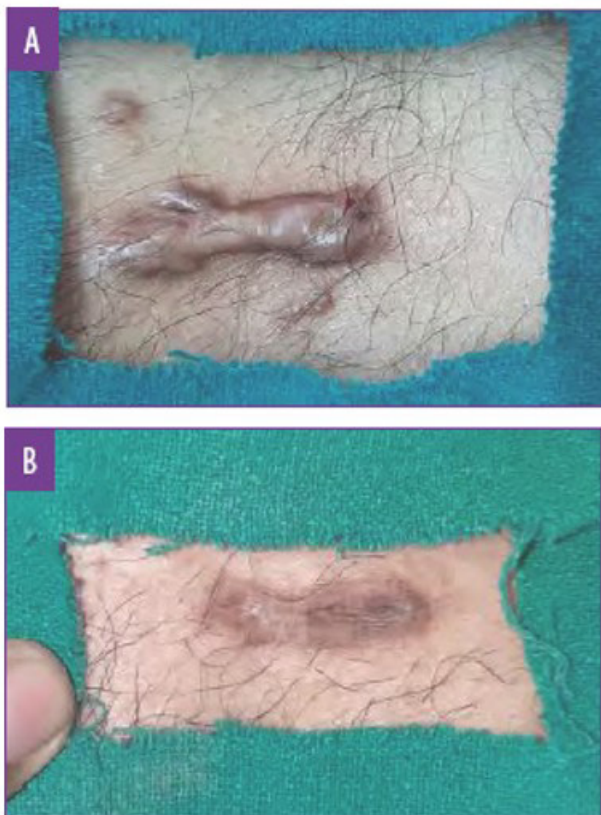
Lasery CO₂ i TAC działają synergistycznie, zmniejszają aktywność fibroblastów, a tym samym produkcję kolagenu⁶⁷. Laser ten emituje światło o długości fali 10600 nm, które jest pochłaniane przez wodę, prowadzi to do waporyzacji tkanki. Tkanka taka tworzy pojedyncze rzędy, które są otoczone skórą normalną, czyli strefy mikrotermalne (MTZ ang. microthermal treatment zone). MTZ biorą udział w regenerowaniu się tkanek, ponieważ wywołują silną odpowiedź gojenia się ran⁶⁸. Przeanalizowana została ablacja laserowa CO₂ keloidów, po czym zastosowano comiesięczne leczenie TAC zmiany skórnej, okres terapii trwał do 6 miesięcy od przeprowadzenia zabiegu

laserowego. Średni odsetek nawrotu wynosił 15,4% przy okresie obserwacji 6 miesięcy. Efektami niepożądanymi ablacji laserem CO₂ jest ból oraz hipopigmentacja^{52,68}.

TAC z krioterapią wewnątrzogniskową

Metoda połączenia TAC i krioterapii wewnątrzogniskowej uzyskiwała akceptowalne wyniki. Krioterapia doogniskowa opiera się na umieszczeniu krioigieł do bądź poniżej podstawy keloidu i zahamowaniu dopływu krwi do zmiany chorobowej poprzez zamrożenie, następnie TAC jest wstrzykiwany domiejscowo przez okres 6 miesięcy. Odsetek nawrotu bliznowca wynosi 12% w okresie obserwacji trwającym 6 miesięcy^{52,69}.

Rycina 4. Na rycinie przedstawiono keloid A przed leczeniem; B po leczeniu terapią skojarzoną TAC z 5-FU



Źródło: "Treatment of Small Keloids Using Intralesional 5-fluorouracil and Triamcinolone Acetonide versus Intralesional Bleomycin and Triamcinolone Acetonide"

TAC oraz 5-Fluororacyl (5-FU)

Zastosowanie TAC w połączeniu z 5-FU wykazuje dużo lepsze działanie niż stosowanie każdej terapii osobno metoda ta zmniejsza skutki uboczne związane z samodzielnym stosowaniem TAC ⁵². Brak jednolitych dowodów związanych z niskim odsetkiem nawrotów bliznowca (odsetek ten nie został określony dokładnie, waha się od 0% do 47% w zależności od badania), nie jest jednak powodem do odrzucenia tej terapii, ponieważ jest ona łatwa w podawaniu pacjentowi oraz dominuje ona nad TAC i 5-FU stosowanymi jako monoterapia ⁷⁰. Niektórzy pacjenci mogą odczuwać dyskomfort podczas podawania 5-FU, dlatego czasami wymagane jest znieczulenie przed wstrzyknięciem 5-FU w celu poprawienia tolerancji ⁷⁰.

4.1.3. Inne

Taśma steroidowa

Taśma sterydowa to jedna z podstawowych metod leczenia keloidów ^{3,11}. Stosowanie tylko taśmy sterydowej sprawdza się w przypadku pacjentów pediatrycznych, jak i osób w podeszłym wieku, gdyż ich skóra jest znacznie cieńsza i łatwo wchłania steroid. Taśmę steroidową można również stosować po zabiegu chirurgicznego usunięcia bliznowca w celu uniknięcia nawrotu zmiany skórnej ^{34,37,43}. W przypadku grubych zmian sama taśma jednak nie jest wystarczająca, należy wtedy do terapii dołączyć doogńiskowe zastrzyki kortykosteroidowe, które sprawiają, że keloid staje się bardziej miękki, a steroid z taśmy lepiej wchłaniany ^{47,49}. Terapię kontynuuje się do momentu, w którym blizna spłaszczy się i zmieknie ^{34,38,47}. Leczenie zostaje zakończone nałożeniem niesteroidowej maści np. z wyciągiem z cebuli.

Opatrunki okluzyjne

Należą do nich arkusze wykonane z żelu silikonowego (SGS), opatrunek okluzyjny stosowany jest powszechnie, aby zmniejszyć ryzyko nadmiernego tworzenia się blizn. SGS zawiera półokluzyjny arkusz żelu silikonowego oraz trwałą silikonową membranę ^{8,35,43}. Główny mechanizm funkcjonowania opatrunków jest niejasny, wiadomo jednak, że SGS nawadnia oraz zamyka łożysko rany. Tkanka bliznowata bardziej narażona jest na przeznaskórkową utratę wody, dlatego SGS odzwierciedla barierę ochronną warstwy rogowej naskórka, tworzy także środowisko zatrzymujące wilgoć zapobiegając tym samym odwodnieniu rany ⁴¹⁻⁴³. Działanie to prowadzi do ograniczenia aktywacji fibroblastów, a także produkcji kolagenu. SGS powinno być stosowany jako środek

zapobiegawczy, a nie jedyna metoda leczenia, zalecane jest nakładanie tego opatrunku na 12 godzin dziennie przez okres co najmniej 12 miesięcy^{38,47,49}.

Steroidy doogniskowe

Steroidy podawane do keloidu są szeroko dostępną i skuteczną terapią, będącą leczeniem pierwszego rzutu. Kortykosteroidy hamują proces zapalenia ran, wzrostu fibroblastów oraz zwiększają degradację kolagenu^{3,6,8,28}. Triamcydon bierze udział w tłumieniu wzrostu fibroblastów, zmniejszeniu ekspresji TGF- β oraz gęstości fibroblastów, gdyż powoduje zwiększenie apoptozy fibroblastów, promuje także degradację kolagenu^{43,52}. Steroid zostaje zazwyczaj wstrzyknięty do zmiany w stężeniu od 2,5 mg do 20 mg w przypadku keloidów występujących na twarzy lub od 20 mg do 40 mg w przypadku bliznowców zlokalizowanych w innych anatomicznych miejscach. Niezbędne jest jednak wielokrotne wstrzykiwanie steroidów doogniskowo, w odstępach od 4 do 6 tygodni, nie dłużej, w celu uniknięcia zahamowania czynności kory nadnerczy^{28,41,43,52}. Substancję tę można stosować zarówno samodzielnie jak i z innymi sposobami leczenia keloidów. Po chirurgicznym usunięciu keloidu triamcydon stosowany jako monoterapia prowadzi do zmniejszenia objętości bliznowca, a odsetek nawrotu wynosi odpowiednio 33% po rocznym oraz 50% po pięcioletnim okresie obserwacji. Działania niepożądane wstrzyknięcia kortykosteroidów to ból podczas podawania, hipopigmentacja, zanik skóry^{31,35,49}.

Acetonid triamcynolonu

Substancja ta prowadzi do szybkiego zmniejszenia stanu zapalnego. Każdorazowo iniekcja powinna zawierać 5-10 mg acetonidu triamcynolonu zmieszanego ze środkiem miejscowo znieczulającym, może to być ksyllokaina 1% z epinefryną^{43,50,53,62}. Do wstrzyknięcia używane są cienkie igły - 27 G i 30 G - środek ten powinien być wstrzykiwany na granicy keloidu ze skórą normalną, a nie od razu w centrum, gdyż jest ono twarde, a substancja podawana nie ulegnie rozproszeniu, co może wywoływać ból. Igła powinna penetrować płytko, tak by dotrzeć do zaognionej krawędzi keloidu bądź głęboko w kierunku środka, gdyż tkanka bliznowata jest bardziej miękka niż górny rdzeń centralny^{47,70,81,85}. Po kilku zastrzykach keloid ulega zmiękczeniu, wtedy iniekcja może być podawana bezpośrednio do rdzenia^{50,64,82}. Kontynuacją terapii jest zastosowanie taśmy steroidowej w celu utrzymania uzyskanego efektu.

Rycina 5. Na rycinie przedstawiono po lewej keloid przed leczeniem; po prawej po leczeniu kortykosteroidami doogniskowo 2 miesiące od ostatniego wstrzyknięcia



Źródło własne

Mitomycyna C (MMC)

Mitomycyna C jest to antybiotyk wyizolowany ze *Streptomyces cespi-tosus*, może zmniejszać ryzyko nawrotu bliznowca po jego wycięciu. MMC to substancja przeciwnowotworowa, alkilująca i sieciująca DNA, hamująca syntezę kwasów nukleinowych i białek^{48,53,63}. MMC zmniejsza proliferację fibroblastów w stężeniach 0,4 mg/ml oraz 0,1 mg/ml, co wykazano podczas badań in vitro dorosłych fibroblastów skórnych, stwierdzono całkowitą śmierć komórek podczas ciągłej tygodniowej ekspozycji oraz po trzech tygodniach od jednorazowej pięciominutowej prezentacji^{48,63}. Na schemat leczenia składa się użycie nasączonego materiału chłonnego 1 mg/ml MMC od 3 do 5 minut, powtarzając aplikację po trzech tygodniach od poprzedniego zabiegu. Mitomycyna C może powodować owrzodzenie w obrębie rany, a także hipopigmentację i ból po leczeniu⁴⁸.

Toksyna botulinowa typu A (BTXA)

Wyizolowana jest z *Clostridium botulinum*, to silna neurotoksyna blokująca przekazywanie nerwowo-mięśniowe, poprawia ona kosmetykę blizn zmniejszając napięcie gojących się brzegów rany⁷²⁻⁷⁴. BTXA akumuluje fibroblasty w fazie G0, G1 cyklu komórkowego, odpowiada za zmniejszenie ekspresji TGF- β 1^{76,78}. Wstrzyknięcie BTXA w stężeniu 35 jednostek/ml, w dawce całkowitej w zakresie 70–140 jednostek na sesję, odstępach trzymiesięcznych przez 3 – 9 miesięcy, wywołało pozytywne efekty leczenia. Pacjenci byli zadowoleni z braku poważnych efektów ubocznych i oznak nawrotu bliznowca⁷⁴⁻⁷⁸.

5-fluorouracyl (5-FU)

Głównie wykorzystywany w formie chemioterapeutyku, 5-FU to analog pirymidyny powodujący nieodwracalne zahamowanie syntezy tymidyny, co skutkuje zakłóceniem replikacji DNA i proliferacji komórek^{52,70,81}. 5-FU zastosowany *in vitro* zmniejsza syntezę kolagenu zależną od TGF- β , wzrost fibroblastów oraz generuje apoptozę fibroblastów^{70,79,81}. Zastosowanie 5-FU do terapii blizn keloidowych będących opornymi przynajmniej na jedną terapię okazało się skutecznym rozwiązaniem, dodatkowo warto zauważyć, że bolesne i swędzące objawów keloidów ustąpiły. Tatuowanie z 5-FU polega na ściekaniu 50 mg/ml roztworu 5-FU na bliznowiec, kolejno wykonanie wielokrotnych nakłuć keloidu igłą o rozmiarze 27, a na koniec ponownie kapanie roztworu 5-FU na keloid^{70,79,80,84}. Metoda ta spotyka się z pozytywnym odbiorem pacjentów.

Istnieje możliwość, iż bliznowce starsze niż dwa lata są bardziej odporne na leczenie 5-FU^{79,80}. Odnotowano następujące skutki uboczne po wstrzyknięciu 5-FU - owrzodzenia rany, przebarwienia zmiany chorobowej, natomiast do niepożądanych działań ogólnoustrojowych można zaliczyć niedokrwistość, leukopenię i trombocytopenię^{80,82,84}.

Inhibitory ACE

Miejscowy układ renina-angiotensyna bierze udział w produkcji kolagenu oraz gojenia się ran, a także uczestniczy w chorobach przebiegających z włóknieniem^{86,87}. Inhibitory konwertazy angiotensyny (ACE) hamują powstawanie bądź działanie angiotensyny (Ang) II w tkankach^{87,88}. Istnieje sporo inhibitorów ACE, są to między innymi kaptopryl, enalapryl, ramipryl, lizynopryl, fozynopryl. Hamują one syntezę oraz odkładanie się kolagenu, a także opóźniają gojenie się przewlekłych ran. Fibroblasty bliznowca wykazują zmniejszoną ekspresję Ang II, PDGF-BB, białka szoku cieplnego 47, TGF- β 1^{44,86-88}. Niazi i wsp. w swoim badaniu ocenili stężenia Ang II oraz jednego z jej głównych receptorów - AT1 u osób z keloidami, bliznami przerostowymi i osobami zdrowymi. Badacze wykorzystali techniki immunoenzymatycznego testu immunosorpcyjnego, udowodnili, że podwyższone stężenie receptora AT1 występuje u pacjentów z bliznowcami, natomiast stężenie Ang II w porównaniu z osobami z bliznami przerostowymi jest niższe^{44,86}. Istnieje możliwość, że keloidy są stymulowane stężeniem receptorów Ang II i AT1, a zatem zastosowanie inhibitorów ACE jest potencjalną formą leczenia bliznowców. Do tej pory przeprowadzono jednak tylko kilka badań klinicznych,

niezbędne jest dalsze wykonywanie analiz, aby dokładnie ocenić skuteczność inhibitorów ACE ⁸⁶.

Bleomycyna

Bleomycyna jest izolatem *Streptomyces verticillus* wykorzystywanym jako chemioterapeutyk o właściwościach przeciwwirusowych i przeciwbakteryjnych. Rozszczepia jednoniciowy i dwuniciowy DNA, hamuje syntezę DNA i RNA oraz białek, indukuje apoptozę ^{44,89}. Bleomycyna hamuje syntezę kolagenu przez fibroblasty skóry, zwiększa obrót kolagenu, obniża poziom oksydazy lizylowej niezbędnej do dojrzewania kolagenu, a także działa cytotoksycznie na keratynocyty i nabłonek ekrynowy ^{89,91}. Dawką zalecaną do wstrzyknięcia jest zakres od 0,1 ml (1,5 j.m./ml), można ją stosować w dawce maksymalnej 6 ml, w celu uniknięcia jej toksyczności, przez 2–6 sesji w miesiącu. Tatuowanie bleomycyną obejmuje wkroplenie roztworu bleomycyny na keloid oraz późniejsze wielokrotne nakłucie za pomocą igły 22–25 G ^{44,90,92}. Przeprowadzone badania obejmowały krople bleomycyny o stężeniach 1,5 IU/ml, 3 IU/cm² i 6 IU/cm², następnie wykonano 40 nakłuć na 1 cm² lub 5 cm², zabieg wykonywano w wielu sesjach. Tatuowanie bleomycyną keloidów osiągnęło pewien sukces, gdyż 66% - 77% pacjentów doświadczyło spłaszczenia blizny ⁴⁴. Manca i wsp. stworzyli nowy schemat leczenia zapewniający większą penetrację leku. W tym celu połączyli iniekcję bleomycyny z terapią elektroporacyjną, która wykorzystuje prąd przechodzący przez obszar bliznowca, tak aby zwiększyć przepuszczalność komórek ⁹⁰. Badacze wysunęli następujący wniosek: 94% pacjentów wykazało zmniejszenie keloidu o ponad 50%, u 83% pacjentów wystąpiło zmniejszenie rumienia, bólu i świądu w ciągu 12 miesięcy po zastosowanym leczeniu ⁹⁰. Huu i wsp. udowodnili skuteczność terapii bleomycyną podawaną średnio cztery razy, podczas badania keloidów o różnej wielkości i lokalizacji, w miesięcznych odstępach. 70,8% bliznowców stało się całkowicie płaskie, 8,3% dość płaskie, 17,5% stosunkowo płaskie, a 3,3% średnio płaskie ⁹¹. Udowodniono, iż terapia z użyciem bleomycyny jest tak samo skuteczna, podczas wstrzyknięcia do zmiany chorobowej, wstrzyknięcia dermojetu, nakłuciu przez wiele igieł, czy technikach tatuowania. Częstymi działaniami niepożądanymi po wykorzystaniu bleomycyny są ból podczas iniekcji, przebarwienia, pęcherze, owrzodzenia i atrofia skóry ⁸⁹⁻⁹².

Werapamil

Werapamil to bloker kanału wapniowego przyspieszający degradację tkanki indukując wydzielanie prokolagenazy, w wyniku czego kształt fibroblastów

zostaje zmieniony, dochodzi do indukowanej apoptozy TGF- β 1, zmniejszenia wytwarzania ECM i depolimeryzacji filamentów aktynowych^{94,96}. Zastosowanie werapamilu podczas abdominoplastyki i mammoplastyki umożliwia uniknięcie rozwoju keloidów po operacjach plastycznych. Środek ten jest bezpieczny, pozwala na redukcję wysokości oraz elastyczności bliznowca^{94,95}. Werapamil w połączeniu z terapią uciskową poprawia pigmentację oraz zmniejsza świąd, uniesienie, unaczynienie i elastyczność bliznowców powstałych w wyniku oparzeń. Badanie Khattaba i wsp. z wykorzystaniem werapamilu i PDL w leczeniu keloidów, wykazało wyższą skuteczność w terapii skojarzonej w porównaniu do werapamilu wykorzystanym w formie monoterapii⁹⁷. Morelli i wsp. wykazali, że stosowanie TAC i werapamilu jednocześnie w dłuższej perspektywie jest bardziej skuteczne, a także odnotowano znaczną poprawę, dzięki zastosowaniu terapii skojarzonej dającej długotrwałe i stabilne efekty^{94,95,98}.

Imikwimod

Jest on wykorzystywany podczas leczenia raka podstawnokomórkowego i brodawek związanych z wirusem brodawczaka ludzkiego^{44,100}. Po wycięciu keloidu zastosowanie 5% kremu z imikwimodem jest terapią adjuwantową. Imikwimod to agonista receptora Toll-podobnego 7 ograniczającego produkcję kolagenu przez fibroblasty oraz działa na interferon alfa (IFN- α), zmniejszając aktywność fibroblastów, produkcję glikozaminoglikanów oraz zwiększając poziom kolagenazy⁹⁸⁻¹⁰⁰. Do działań niepożądanych zaliczyć można przebarwienia, rumień, podrażnienie, wtórną infekcję⁴⁴.

Interferony (IFN)

Do interferonów należą grupy cytokin pośredniczących w złożonych interakcjach komórkowych, które włączają funkcje immunoregulacyjne, antyfibrotyczne i antyproliferacyjne^{44,45}. Interferon alfa-2b i interferon gamma są opcjami terapeutycznymi dla keloidów. Interferon alfa-2b oraz interferon gamma działają hamująco na syntezę kolagenu, gdyż zwiększają aktywność kolagenazy, skurcz blizn przez fibroblasty, nie wiadomo jednak jak interferon zmienia proces włóknienia wywołany TGF- β ^{45,101,102}. Interferon alfa-2b jest wstrzykiwany do keloidów przynajmniej dwukrotnie w dawkach od 500 000 do 6 milionów jednostek^{44,101}. Badacze dokonywali wstrzyknięcia 0,1 mg lub 0,01 mg 1 do 3 razy w tygodniu przez 3 do 10 tygodni, interferon gamma wykazywał zmniejszenie keloidu w okresie stosowania terapii, niestety nie istnieją jednoznaczne wyniki świadczące o skuteczności stosowania tej metody

leczenia^{44,45}. Odsetek nawrotu bliznowca wynosił 18,7% przy okresie obserwacji 7,9 miesiąca. Efektami ubocznymi był ból w miejscu iniekcji, miejscowy rumień, obrzęk oraz objawy grypopodobne - gorączka, bóle mięśniowe, jednak wykorzystany acetaminofen z powodzeniem poradził sobie w profilaktyce tych ogólnoustrojowych symptomów¹⁰¹⁻¹⁰³. Badania eksperymentalne i kliniczne nad IFN pozostają obiecującym sposobem w leczeniu keloidów.

Terapia laserowa

Wykorzystanie lasera o długości 1064 nm do spłaszczenia keloidów, mających niski poziom zapalenia jest stosowany, aby zmniejszyć zaczerwienienie, teleangiektazję, które zostały wywołane sterydoterapią^{44,104,110}. Po całkowitym stłumieniu zapalenia zmiany chorobowej, u osób niskiego ryzyka rekomenduje się zastosowanie frakcyjnego lasera ablacyjnego. Wiązka lasera dociera do naczyń krwionośnych w skórze właściwej, indukuje odpowiedź gojenia się ran, zwiększa produkcję kolagenu III, następnie prowadzi do przebudowy blizny^{105,110}. Sesje przebiegające z wykorzystaniem lasera pulsacyjnego o długości 585 nm i lasera 1065 nm z domieszką neodymu i granatu itrowo-aluminiowego (ndYAG) wywołują spłaszczenie oraz regresję bliznowców^{44,104,108}. Istotne jest, by skóra była schłodzona podczas laseroterapii w celu uniknięcia powierzchownych urazów. Lasery te mają ograniczoną skuteczność w przypadku grubych keloidów.

Laser ablacyjny

Lasery ablacyjne z dwutlenkiem węgla i granatem itrowo-aluminiowym domieszkowanym erbem (Er:YAG) celują w cząsteczki wody, w celu wywołania miejscowej zmiany w tkankach - przebudowy kolagenu, zwiększenia ilości podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów i obniżenia poziom TGF- β ^{44,104,105,108}. Lasery te mogą być stosowane do ablacji powierzchniowej tkanki bliznowca lub operacyjnego wycięcia zmiany. Wielokrotne zastosowanie zabiegów ablacyjnych CO₂ jest niezbędne dla długotrwałej poprawy wyglądu keloidu^{67,105,110}. Terapia laserem frakcyjnym CO₂ o wysokiej energii, z różnymi częstotliwościami lasera poprawia pigmentację, elastyczność i objętość blizny po 6 miesiącach od wykonania ostatniego zabiegu. Scrimali i wsp. udowodnili, że terapie frakcyjne CO₂ poskutkowały brakiem nawrotu keloidów po wykonaniu serii 6-12 zabiegów po roku¹¹¹. Wagner i wsp. wykorzystali do swojego badania laseroterapię Er:YAG, zauważono zmniejszenie zaczerwienienia blizny, jej uniesienia i twardości średnio o 50%¹¹². Skutki uboczne laseroterapii

były rzadko zgłaszane, lecz jeśli wystąpiły to obejmowały rumień, obrzęk i hiperpigmentację^{44,67,105,110}.

Laser barwnikowy pulsacyjny (PDL)

PDL to nieablacyjny terapia laserowa powodująca uszkodzenie mikroką-
żenia keloidowego, czego skutkiem jest miejscowe niedotlenienie oraz mniej-
sze zaopatrzenie zmiany skórnej w składniki odżywcze, będące niezbędnymi
do zachodzenia zmian biochemicznych^{37,109,115}. Istnieje wiele teorii mających
na celu wyjaśnienie tego zjawiska, odnosiły się one m.in. do rozerwania wią-
zań dwusiarczkowych kolagenu, podwyższonego poziomu kolagenazy, na razie
jednak nie zostało to udowodnione¹¹³⁻¹¹⁵. Kuo i wsp. zauważyli zmniejszo-
ny poziom ekspresji TGF- β oraz zwiększoną apoptozę fibroblastów pocho-
dzących z biopsji keloidu po leczeniu PDL. Terapia jest zazwyczaj stosowana
w sąsiadujących, nie nakładających się impulsach laserowych na całej długości
bliznowca, wykorzystuje się wtedy laser o długość fali od 585 nm do 595 nm.
Zalecana ilość sesji to 12 do 18 zabiegów, w odstępach od 4 do 8 tygodni¹¹³.
Cannarozzo i wsp. doszli do wniosku, że 49% pacjentów miało co najmniej
75% poprawę ogólnego koloru blizny, rozmiaru, elastyczności i tekstury już
po 4 do 6 sesjach¹¹⁴. Wykazano, że metoda PDL łagodzi typowe objawy ke-
loidu, do których należy ból, świąd i pieczenie. Do efektów niepożądanych ter-
apii można zaliczyć przejściową plamicę, pęcherze, strupy i pozapalne zmiany
pigmentacyjne, uboczne konsekwencje częściej występują u osób o ciemniej-
szych odcieniach skóry^{37,113-115}.

Wspomagane laserem dostarczanie leków (LADD)

Lasery wykorzystywane są również do zwiększenia przenikania leku poza
warstwę rogową naskórka. LADD wykorzystuje powszechnie stosowane lasery
ablacyjne CO₂ i Er:YAG, aby utworzyć w skórze cylindryczne strefy mikro-
ablacji pozwalające na dostarczenie środków miejscowych do skóry właściwej¹⁰⁵⁻¹⁰.
LADD zwiększa wnikanie leku oraz zmniejszając dawkę wymaganą do
uzyskania skuteczności³⁷. Cavalie i wsp. stosowali laser Er:YAG co 2 tygodnie
z miejscowym nakładaniem 2 razy dziennie kremu betametazonowego do mo-
mentu, w którym zaobserwowali odpowiednią poprawę keloidu. Średnio po
9 zabiegach, ogólna poprawa wyniosła 50%, największą poprawę zaobserwo-
wano w przypadku keloidów wywołanych trądzikiem. U 22% pacjentów po 2
pierwszych miesiącach zaobserwowano nawrót bliznowca¹¹⁷. Park i wsp. po-
równali skuteczność Er:YAG LADD terapii acetonidem triamcynolonu i miej-
scowego wykorzystania dezoksymetazonu do leczenia zmian chorobowych.

Badanie zostało przeprowadzone na podzielonym bliznowcu, w celu porównania tych metod leczenia, każda terapia steroidowa LADD podana była w 4 sesjach, w odstępach sześciotygodniowych. Po 12 tygodniach od ostatniego zabiegu odnotowano widoczną poprawę obu połówek blizn ¹⁰⁷.

Terapia kompresyjna

Terapia ta jest uzupełnieniem zabiegu chirurgicznego usunięcia bliznowca, stosuje się ją aby uniknąć nawrotów keloidów zlokalizowanych na uszach ³⁷. Metoda uciskowa obejmuje bandaże elastyczne, niestandardowe uciskowe wkładki do uszu, kolczyki a także magnesy. Terapia ta prowadzi do apoptozy komórek w ECM, która spowodowana jest przez mechanoreceptory oraz niedokrwienie wywoływane ciśnieniem zmieniającym aktywność fibroblastów i prowadzącym do degradacji kolagenu ^{64,118}. Najlepsze efekty leczenia można zauważyć, jeśli urządzenie uciskowe zakładane jest codziennie na co najmniej 12 godzin przez przynajmniej 6 miesięcy pod ciśnieniem nie mniejszym niż 24 mmHg. Ciśnienie przekraczające 30 mmHg może prowadzić do martwicy tkanek. Zmiany uszne, które pooperacyjnie poddane zostały terapii uciskowej wykazują wskaźnik nawrotów keloidów wynoszący od 5% do 29,5% ^{37,64,118}.

Krioterapia

Krioterapia opiera się na zamrażaniu bliznowców, aby zmniejszyć ich objętość i nawroty, temperatura zmiany skórnej zostaje obniżona poniżej -22°C. Zalecane są cykle zamrażania i rozmrażania trwające od 10 do 20 sekund, w celu uzyskania martwicy tkanki bliznowatej ^{69,74,119}. Niskie temperatury uszkadzają naczynia, a tym samym powodują niedotlenienie komórek, krienekrozę i martwicę. Biopsje keloidów po leczeniu wykazują zmianę ułożenia włókien kolagenowych w sposób bardziej zwarty i równoległy, zbliżony do organizacji tych włókien w zwykłej bliznie ¹¹⁹⁻¹²¹. Aktualnie krioterapia obejmuje terapię natryskową, kontaktową oraz bezpośrednio do keloidu poprzez spray lub kriosondę igłową, wymagane jest wielokrotne wykonanie zabiegu. Krioterapia do zmiany chorobowej wykazuje lepsze zamrażanie nieprawidłowej blizny oraz wymaga mniejszej ilości wykonanych sesji w celu uzyskania satysfakcjonującego efektu w porównaniu do krioterapii natryskowej i kontaktowej. Badania wykazały, że krioterapia do keloidu może prowadzić do zmniejszenia jego objętość średnio o 51,4–67,4% po 12 miesiącach od ostatniego zabiegu ^{37,69,74,120,121}. Odsetek nawrotów waha się od 0% do 24% i został zgłoszony od 6 do 18 miesięcy po zakończeniu leczenia. Częstymi efektami ubocznymi są tymczasowe pęcherze, ból oraz przejściowa hipopigmentacja ^{55,120}.

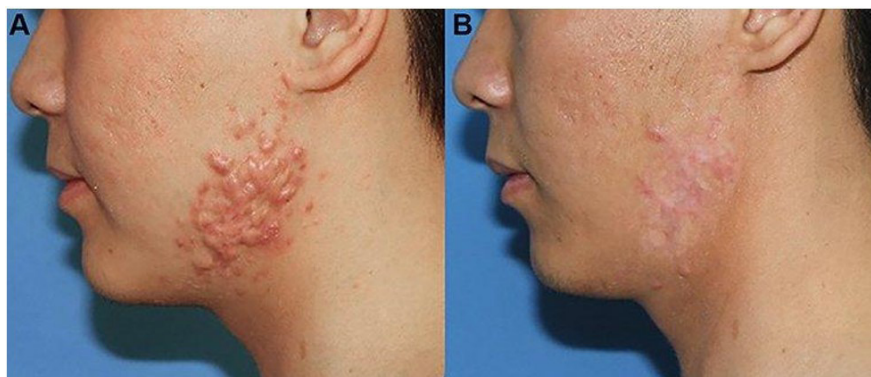
Radioterapia

Radioterapia powoduje przedwczesne starzenie fibroblastów oraz obniżoną proliferację w zależności od dawki. Aktualnie występują dwie formy naświetlania keloidów: zewnętrzna i wewnętrzna. Radioterapia wiązką elektronów (EBRT) jest formą promieniowania wiązkami zewnętrznymi^{123,124,131}. Brachyterapia śródmiąższowa to natomiast forma promieniowania wewnętrznego, podczas której wykorzystywany jest wydrążony cewnik ulokowany w skórze właściwej zmiany chorobowej, tak aby przeprowadzić radioterapię miejscową. Brachyterapia śródmiąższowa wykorzystywana jest w formie niskiej dawki (LDR) oraz wysokiej (HDR). Czas leczenia techniką LDR wynosi od 20 do 72 godzin, natomiast leczenie HDR trwa od 5 do 10 minut, dodatkowo technika HDR gwarantuje lepsze łagodzenie objawów keloidów - ból i świąd - w porównaniu z terapią LDR^{37,132-135}. Częstość nawrotów keloidów po zastosowaniu radioterapii waha się od 2% do 72%^{37,129,132-134}. Ostatnie badania opisujące częstość nawrotów różnych form promieniowania keloidów porównują biologicznie skuteczną dawkę (BED) różnych protokołów leczenia. Dawka promieniowania na frakcję, liczba frakcji i całkowity czas leczenia zostały wykorzystane w obliczeniach skuteczności biologicznej różnych radioterapii^{37,127}. Mankowski i wsp. wybrali obliczenia BED do stworzenia metaanalizy, aby wykazać odsetek nawrotów keloidów: 23 % dla ERBT i 15% dla brachyterapii przy średnim okresie obserwacji 14,4 miesiąca^{71,133,135}. Wykazano, że radioterapia to najskuteczniejsza forma terapii wspomagającej po chirurgicznym usunięciu bliznowca w porównaniu z monoterapią. Stosowana najczęściej jako terapia uzupełniająca 24 do 28 godzin po wycięciu chirurgicznym keloidu^{122,124-126}.

Tkanki otaczające keloid powinny być odpowiednio osłonięte, szczególnie tarczyca i klatka piersiowa, w celu zmniejszenia ryzyka kancerogenezy po radioterapii keloidów. Należy zachować ostrożność u pacjentów w wieku poniżej 18 lat oraz w obszarach wrażliwych, takich jak głowa, szyja i piersi, ponieważ wiąże się to z nieodłącznym ryzykiem kancerogenezy^{122,128,133-135}.

Do efektów ubocznych można zaliczyć rumień, łuszczenie się i przemijające zmiany pigmentacyjne. Pacjenci mogą doświadczać także trwałej depigmentacji, atrofii, teleangiektazji, zwłóknienia podskórnego, przewlekłych ran, a nawet i powstania nowotworu. Ryzyko powikłań po zastosowaniu radioterapii wzrasta wraz z dawkowaniem tej metody leczenia bliznowców^{71,124,136}.

Rycina 6. Na rycinie A Pacjent z licznymi bliznowcami na twarzy przed leczeniem; B 1 rok po radioterapii z dwoma kolejnymi naświetlaniami, bez nawrotu bliznowca



Źródło: "Treatment of Keloids Using Plasma Skin Regeneration Combined with Radiation Therapy Under the Evaluation of Patient and Observer Scar Assessment Scale"

Przeszczep tłuszczu

Przeszczep tłuszczu stosowany może być jako terapia uzupełniająca w leczeniu keloidów³⁷. Udowodniono, że polepsza regenerację tkanek pacjentów z bliznowcami po oparzeniu oraz poprawia kosmetykę blizny. Przeszczepy są możliwą terapią, dzięki naturalnym właściwościom komórek macierzystych tkanki tłuszczowej (ASC)^{37,44,137}. ASC może różnicować się w inne tkanki oraz wykazywać właściwości angiogeniczne i antyapoptotyczne pomagające podczas dojrzewania tkanek miękkich i przebudowie blizn. ASC wpływa także na jakość gojenia ran, tworzenia się blizn modulując fibrogenezę przez podwyższoną produkcję kolagenu, a także hamowanie proliferacji fibroblastów¹³⁷.

Osocze bogatopłytkowe (PRP)

PRP to skoncentrowane autologiczne osocze zawierające ponadfizjologiczną normę płytek krwi oraz ziarnistości alfa połączone z czynnikami wzrostu i cytokinami, do których należą czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego oraz czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego i TGF- β ^{56,138}. Leczenie PRP pomaga w wielu różnorodnych schorzeniach natury dermatologicznej m.in. leczenie blizn. PRP zwiększa proliferację fibroblastów, ekspresję kolagenu oraz syntezę białek, aktualnie wykorzystywane jest w charakterze terapii po chirurgicznym usunięciu keloidu wstrzykiwanej do łożyska rany^{56,92,139}. Hersant i wsp. wykazali 29% nawrót keloidu po dwóch latach stosując śródoperacyjnie PRP podczas usunięcia chirurgicznego i po operacji co miesiąc przez 3 miesiące. Z przeprowadzonego badania można wywnioskować, iż PRP modyfikuje

nieprawidłowe gojenia się ran obserwowanych po chirurgicznym usunięciu bliznowca ⁵⁶. Jones i wsp. dowiedli, że PRP stosowane jako terapia skojarzona z chirurgicznym wycięciem i radioterapią rentgenowską keloidów zlokalizowanych na uszach zmniejsza odsetek nawrotów do 6% po dwóch latach ⁹². Azzam i wsp. wykazali, że odsetek nawrotów keloidów wynosi 32% podczas wykorzystania PRP do operacyjnego usunięcia i krioterapii keloidu ¹³⁹.

Terapia komórkami macierzystymi

Dojrzałe komórki macierzyste są potencjalną możliwością komórkowej naprawy rany oraz terapii blizn. Mezenchymalne komórki macierzyste (MSC) wykazują zdolność przyspieszania gojenia się ran zwiększając migrację, angiogenezę oraz ponowną epitelializację przy pomocy sygnalizacji parakrynej ^{44,141-143}. MSC produkują czynniki wzrostu, różnicowania, które regulują reakcje zapalne oraz odpornościowe w trakcie gojenia się ran. MSC może być dostarczone do rany bezpośrednio przez wstrzykiwanie, spryskiwanie, podawanie ogólnoustrojowe albo poprzez rusztowania skórne ^{140,143}. Zastosowanie terapeutyczne polegające na wykorzystaniu MSC w leczeniu blizn opiera się na właściwościach przeciwwłóknieniowych tych komórek. Wykazano także możliwe działanie prozapalne wywołane przez MSC sprzyjające tworzeniu się keloidów ^{141,143}. Niezbędne są kolejne badania w celu wyjaśnienia skuteczności komórek macierzystych w leczeniu keloidów.

Genetyczne i komórkowe potencjalne strategie terapeutyczne

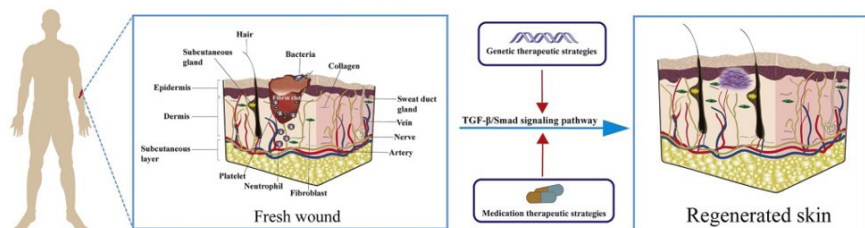
Wiele technik zarówno genetycznych, jak i komórkowych zostało przeanalizowanych w celu zapobiegania powstawaniu blizny. Interferencję RNA (RNAi) przebadano pod kątem leczenia blizn ^{144,145}. Istnieje możliwość, że RNAi zakłóca transkrypcję niektórych genów w fibroblastach i miofibroblastach, czego skutkiem będzie wyeliminowanie nadmiernego powstawania kolagenu i zmniejszenie nieprawidłowego bliznowacenia ^{63,144}. Wyjątkowe zainteresowanie, ze względu na zdolność przyłączania się do docelowego komplementarnego mRNA w sposób specyficzny dla sekwencji przez nieodłączną obróbkę interferencji RNA, objęło małe interferujące RNA (siRNA), symetryczne bądź asymetryczne dwuniciowe RNA, które składają się z około 20 par zasad ^{145,147}. siRNA związane jest ze specyficznym dla sekwencji wiązaniem knockdown genu poprzez tłumienie ekspresji białka, czego skutkiem jest selektywne wyciszanie genów. Przy użyciu odczynników do transfekcji możliwe jest chemicznie zsynchronizowane siRNA przetransferować do komórek ¹⁴⁴⁻¹⁴⁷. Indukujące RNAi, krótkie RNA o strukturze spinki do włosów (shRNA)

dostarczane są do komórek z użyciem odpowiednich wektorów wirusowych bądź niewirusowych kodujących shRNA. MikroRNA (miRNA) jest to małe RNA, które nie koduje, lecz łączy się z mRNA genów odpowiedzialnych za kodowanie białka, a tym samym prowadzi do ich potranskrypcyjnej represji. MiRNA różni się pochodzeniem ewolucyjnym od siRNA i shRNA, miRNA posiadające długość mniejszą niż 200 nukleotydów (nt) jest małym niekodującym RNA (ncRNA), natomiast długie niekodujące RNA (lncRNA) ma długość większą niż 200 nt^{63,144-148}. Interferencja, przebudowa chromatyny, regulacja splicingu potranskrypcyjnego lncRNA może wywierać wpływ na transkrypcję przebudowę chromatyny. Wyniki strategii terapii genetycznej i komórkowej są obiecujące, niestety bezpieczeństwo jest wątpliwe, gdyż udowodniono, że metoda ta indukuje odpowiedź immunologiczną aktywując receptor Toll-podobnego (TLR)^{63,145-147}. Potrzeba więcej badań klinicznych, aby umożliwić ocenę bezpieczeństwa oraz skuteczności opisanej metody.

Połączone strategie terapeutyczne

Istnieje wiele strategii terapeutycznych takich jak terapie lekowe, potencjalne metody genetyczne, które hamują szlak sygnałowy TGF-β/Smad będącym kanonicznym szlakiem odpowiedzialnym za produkcję kolagenu w fibroblastach oraz miofibroblastach^{149,151}. Połączenie terapii czynnikiem wzrostu hepatocytów (HGF) oraz BMP-7 z wykorzystaniem skoniugowanych z polietylenoiminą nanocząstek złota (PEI2-GNP) istotnie wpływa na leczenie zwłóknienia rogówki selektywnie indukując apoptozę miofibroblastów. BMP-7 oraz HGF może brać udział w indukowaniu podwyższonej ekspresji kaspazy-3 w miofibroblastach. Wskazuje to na skuteczność metody podwójnej lub nawet potrójnej terapii ukierunkowanej na szlak sygnalizacyjny TGF-β/Smad w fibroblastach lub miofibroblastach^{150,151}. Metoda ta może w przyszłości zapewnić zadowalający efekt hamujący nieprawidłowe tworzenie blizn. Dostarczanie BMP-7 i DKK3 do leczenia blizny keloidowej prawdopodobnie przyczynia się do apoptozy fibroblastów, tym samym powoduje osłabienie nieprawidłowego bliznowacenia i powstawania bliznowców¹⁴⁹⁻¹⁵¹.

Rycina 7. Na rycinie przedstawiono przewidywany efekt terapeutyczny po zastosowaniu genetycznej terapii leczenia keloidów.



Źródło: "Current potential therapeutic strategies targeting the TGF- β /Smad signaling pathway to attenuate keloid and hypertrophic scar formation"

5. Wnioski

Bliznowce zajmują struktury pierwotnych tkanek, wpływają poważnie na ich fizjologiczne funkcje oraz estetykę. Terapie mogące przywrócić zarówno funkcję, jak i wygląd uszkodzonej tkanki cieszą się dużym zainteresowaniem. Leczenie blizn, a także ich profilaktyka stanowi problemem ogólnoswiatowy. Blizny zwłóknieniowe są ostatecznym wynikiem zdeorganizowanego procesu gojenia się ran. Wtargnięcie w ten proces, wcześniej czy później, spowodować może zmniejszenie nadmiernego włóknienia, a nawet jego całkowite zahamowanie^{37,44}. W przyszłości leczenie keloidów może ulec znacznej poprawie, gdyż wiedza na temat biologii blizn wzrośnie, dzięki przeprowadzeniu większej liczby dobrej jakości badań klinicznych i znalezieniu nowych środków wykorzystywanych w celu leczenia bliznowców. Pomimo tego, iż na przestrzeni lat osiągnięto już spore postępy w wyjaśnianiu mechanizmów etiopatogenezy keloidów, to nadal wiele procesów czeka przełożenia na warunki kliniczne. Keloidy stanowią ogromne wyzwanie kliniczne dla lekarzy. Najskuteczniejsze leczenie wynika z zastosowania wielu metod i dostosowania terapii do potrzeb pacjenta. Istotne jest sprostanie oczekiwaniom pacjenta, gdyż w przypadku wszystkich zabiegów, wymagane jest zastosowanie wielu sesji, które nie prowadzą do całkowitej regresji keloidu, a pacjent z defektem estetycznym boryka się przez całe życie. Obecnie jednak na rynku nie ma dostępnych farmaceutyków powodujących całkowite zatrzymanie włóknienia. W przyszłości wykorzystanie niektórych z wcześniej wymienionych technik skojarzonych może przynieść niezwykle efekt hamujący patologiczne tworzenie się zmian bliznowatych w skórze. Co warto zaznaczyć, udowodnione zostało, że skóra płodu, która została uszkodzona może się zregenerować we wczesnym okresie ciąży bez powstania blizny, możliwe jest więc gojenie bez wytworzenia tkanki bliznowatej.

Gojenie bez powstania blizny uwzględnia regenerację, a nie naprawę komórek. Czynniki wzrostu oraz komórki macierzyste znajdujące się w płynie owodniowym płodu gwarantują niezbędną precyzyjną regulację regeneracji komórek. Gojenie to jest obiecującą metodą terapii, którą będzie można osiągnąć dzięki stworzeniu mikrośrodowiska podobnego do występującego w płynie owodniowym, potrzebne są jednak dalsze badania w celu lepszego przeanalizowania i zrozumienia tego procesu¹⁴⁹. Brak dużych, randomizowanych badań wysokiej jakości, które oceniają skuteczność różnych technik leczenia ogranicza uzgodnienie wytycznych postępowania z keloidami, posiadanie większej ilości dowodów mogłoby ułatwić lekarzowi dobór i odpowiednie prowadzenie leczenia pacjentów. Standaryzacja badań eksperymentalnych jest niezbędna, aby dokonać analizy leczenia bliznowców, spójność między obecnymi analizami często niestety nie występuje, gdyż sposoby oceny sukcesu terapii są różnie określane. Dobrze zaprojektowane badania kliniczne w celu głębszego wejścia w mechanizmy rozwoju bliznowca, a także oceny skuteczności oraz bezpieczeństwa różnych terapii doprowadzą, miejmy nadzieję, do lepszych wyników i opcji leczenia bliznowców. Przed badaczami jest jeszcze daleka droga do osiągnięcia wysokiej skuteczności leczenia bliznowców bez nawrotów, drzwi pozostają otwarte dla ambitnych, cierpliwych i wytrwałych naukowców.

Referencje

1. Robles D.T., Moore E., Draznin M., Berg D.: Keloids: pathophysiology and management. *Dermatol Online J* 2007, 13, 9.
2. Viera M.H., Vivas A.C., Berman B.: Update on keloid management: clinical and basic science advances. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2012, 1, 200-206.
3. Gauglitz G.G., Korting H.C., Pavicic T., Ruzicka T., Jeschke M.G.: Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med* 2011, 17, 113-125.
4. Guo S., Dipietro L.A.: Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010, 89, 219-229.
5. M.Jurzak, A.Góździalska, G.Dębska: Keloidy - łagodne nowotwory tkanki łącznej powstające w wyniku zaburzeń gojenia. *Państwo-i Społeczeństwo*, 2012 (XII) nr 2

6. Gauglitz G.G., Korting H.C., Pavicic T., Ruzicka T., Jeschke M.G.: Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med* 2011, 17, 113-125.
7. A.Dmytrzak, A.Małysek, A.Bińczak-Kuleta, B.Łoniewska, A.Ciechanowicz: Brak związku pomiędzy pochodzącą od człowieka neandertalskiego transwersją g.50318299T>G genu HYAL2 a predyspozycją do bliznowca. *Pomeranian J Life Sci* 2017;63(3):26-29
8. Przewłocka-Gagała M.: Współczesny model postępowania z problemem blizn w kosmetologii i medycynie estetycznej. *Aesth Cosmetol Med*. 2021;10(1):39-47.
9. Boniarczyk-Dyła G., Urysiak I., Wawrzycka-Kaflik A.: Keloidy i blizny przerosłe. *Derm Alergol* 2006, 23, 234-238.
10. Ogawa R., Akaishi S., Kuribayashi S., Miyashita T. Keloids and Hypertrophic Scars Can Now Be Cured Completely: Recent Progress in Our Understanding of the Pathogenesis of Keloids and Hypertrophic Scars and the Most Promising Current Therapeutic Strategy. *J. Nippon Med. Sch.* 2016;83:46–53. doi: 10.1272/jnms.83.46.
11. Memariani H, Memariani M, Moravvej H, Shahidi-Dadras M. Emerging and Novel Therapies for Keloids: A compendious review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2021 Feb;21(1):e22-e33. doi: 10.18295/squmj.2021.21.01.004. Epub 2021 Mar 15. PMID: 33777420
12. Sałagan K, Niemyska K. Acne scars – the mechanism of formation and diagnostics. *Kosmetologia Estetyczna*. 2018;7(4):407-412.
13. Brudnik U, Podolec-Rubuś M, Wojas-Pelc A, Problemy terapeutyczne związane z leczeniem bliznowców – nowe kierunki terapii. *Przegl Lek*. 2006; 63: 803–806.
14. Seifert O., Mrowietz U.: Keloid scarring: bench and bedside. *Arch Dermatol Res* 2009, 301, 259-272.
15. Jurzak M., Adamczyk K., Antonczak P., Garnarczyk A., Kuśmierz D., Latocha M.: Evaluation of genistein ability to modulate CTGF mRNA/protein expression, gene expression of TGFβ isoforms and expression of selected genes regulating cell cycle in keloid fibroblasts in vitro. *Acta Pol Pharm Drug Res* 2014, 71, 972-986.

16. Gojniczek K., Jurzak M., Garnarczyk A.: The role of connective tissue growth factor (CTGF) in fibroproliferative processes and tissues fibrosis. *Adv Cell Biol* 2010, 1, 1-17.
17. Wu Y., Peng Y., Gao D., Feng C., Yuan X., Li H. i inni: Mesenchymal stem cells suppress fibroblast proliferation and reduce skin fibrosis through a TGF-beta3-dependent activation. *Int J Low Extrem Wounds* 2015, 14, 50-62. 14.
18. Talar B., Czyż M.: TGF-beta signaling pathways in cancers. *Postepy Hig Med Dosw* 2013, 25, 1008-1017.
19. Liu Y., Li Y., Li N., Teng W., Wang M., Zhang Y., Xiao Z. TGF-β1 promotes scar fibroblasts proliferation and transdifferentiation via up-regulating microRNA-21. *Sci. Rep.* 2016;6:32231. doi: 10.1038/srep32231.
20. Zhang Z., Nie F., Chen X., Qin Z., Kang C., Chen B., Ma J., Pan B., Ma Y. Upregulated periostin promotes angiogenesis in keloids through activation of the ERK 1/2 and focal adhesion kinase pathways, as well as the upregulated expression of VEGF and angiopoietin1. *Mol. Med. Rep.* 2015;11:857–864. doi: 10.3892/mmr.2014.2827.
21. Crawford J., Nygard K., Gan B.S., O’Gorman D.B. Periostin induces fibroblast proliferation and myofibroblast persistence in hypertrophic scarring. *Exp. Dermatol.* 2015;24:120–126. doi: 10.1111/exd.12601.
22. Trojanek J.: Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors. *Post Biochem* 2012, 58, 353-362.
23. Hunasgi S., Koneru A., Vanishree M., Shamala R.: Keloid: a case report and review of pathophysiology and differences between keloid and hypertrophic scars. *J Oral Maxillofac Pathol* 2013, 17, 116-120.
24. Ho Jun Lee , Yong Ju Jang:Recent Understandings of Biology, Prophylaxis and Treatment Strategies for Hypertrophic Scars and Keloids, *Int J Mol Sci.* 2018 Mar 2;19(3):711. doi: 10.3390/ijms19030711.
25. Ladak A., Tredget E.E. Pathophysiology and management of the burn scar. *Clin. Plast. Surg.* 2009;36:661–674. doi: 10.1016/j.cps.2009.05.014.

26. Chen X., Thibeault S.L. Role of tumor necrosis factor- α in wound repair in human vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope*. 2010;120:1819–1825. doi: 10.1002/lary.21037.
27. Namazi M.R., Fallahzadeh M.K., Schwartz R.A. Strategies for prevention of scars: What can we learn from fetal skin? *Int. J. Dermatol*. 2011;50:85–93. doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04678.x.
28. Jones C.D., Guiot L., Samy M., Gorman M., Tehrani H. The Use of Chemotherapeutics for the Treatment of Keloid Scars. *Dermatol. Rep*. 2015;7:5880. doi: 10.4081/dr.2015.5880.
29. Der E. Suryawanshi H. Morozov P. Kustagi M. Goilav B. Rana-bathou S. et al. Tubular cell and keratinocyte single-cell transcriptomics applied to lupus nephritis reveal type I IFN and fibrosis relevant pathways [published correction appears in *Nat Immunol* 2019;20:1556]. *Nat Immunol*. 2019; 20: 915-927
30. Nangole F.W. Agak G.W. Keloid pathophysiology: fibroblast or inflammatory disorders?. *JPRAS Open*. 2019; 22: 44-54
31. Z-C Wang, W-Y Zhao, Y Cao, Y-Q Liu, Q Sun, P Shi, J-Q Cai, X- Z Shen, W-Q Tan: The Roles of Inflammation in Keloid and Hypertrophic Scars, *Front Immunol* actions 2020 Dec 4;11:603187. doi: 10.3389/fimmu.2020.603187. eCollection 2020.
32. Davison S: A Primary Care Perspective on Keloids. *Medscape J Med* 2009; 11(1): 18.
33. Zieliński T, Witmanowski H, Lewandowicz E et al, Blizny przeroskowe i keloidy. Część I Patogeneza i patomechanizm powstawania. *Post DermatolAlergol*. 2008; 25: 107–115.
34. Al-Attar A, Mess S, Thomassen JM et al, Keloid Pathogenesis and Treatment. *Reconstr Surg*. 2006; 117: 286–300.
35. Franaszczuk K, Pietrusiewicz M, Krasowska D, Keloids – Pathogenesis and Treatment. *Ann UMCS Sect D*. 2005; 60: 941–946.
36. P.Antonczak, M.Jurzak, K.Adamczyk, A.Garnarczyk: Wybrane molekularne aspekty procesu fibroproliferacyjnego w przebiegu keloidów; *Przegl Dermatol* 2015, 102, 253–262 DOI: 10.5114/dr.2015.51929

37. U. Betarbet, T.W. Blalock: Keloids: A Review of Etiology, Prevention, and Treatment, *J Clin Aesthet Dermatol.* 2020 Feb; 13(2): 33–43. Published online 2020 Feb 1. PMID: 32308783
38. Bayat, A, Arscott, G, Ollier, WE, et al. Keloid disease: clinical relevance of single versus multiple site scars. *Br J Plast Surg* 2005; 58(1): 28–37.
39. Limandjaja GC, Niessen FB, Scheper RJ, Gibbs S: The keloid disorder: heterogeneity, histopathology, mechanisms and models. *Front Cell Dev Biol.* 2020
40. Khoo Y.T., Ong C.T., Mukhopadhyay A., Han H.C., Do D.V., Lim I.J. i inni: Upregulation of secretory connective tissue growth factor (CTGF) in keratinocyte-fibroblast coculture contributes to keloid pathogenesis. *J Cell Physiol* 2006, 208, 336-343.
41. Reish R.G., Eriksson E. Scar treatments: Preclinical and clinical studies. *J. Am. Coll. Surg.* 2008;206:719–730. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.11.022.
42. Ruccia F, Zoccali G, Cooper L, Rosten C, Nduka C. A three-dimensional scar assessment tool for keloid scars: volume, erythema and melanin quantified. *Skin Res Technol.* 2021; Epub. doi:10.1111/srt.13050
43. R.Ogawa, T.Dohi, M.Tosa, M.Aoki, S.Akaishi, J.Nippon: The Latest Strategy for Keloid and Hypertrophic Scar Prevention and Treatment: The Nippon Medical School (NMS) Protocol. 11;88(1):2-9. doi: 10.1272/jnms.JNMS.2021_88-106. (2021)
44. N.Ojeh, A.Bharatha, U.Gaur, A.LeRoy Forde: Keloids: Current and emerging therapies, 2020 Aug 10;6:2059513120940499. doi: 10.1177/2059513120940499. Affiliations expand PMID: 32844039 PMID: PMC7418256 DOI: 10.1177/2059513120940499
45. Limmer EE, Glass DA: A review of current keloid management: mainstay monotherapies and emerging approaches. *Dermatol Ther.* 2020, 10:931-948. 10.1007/s13555-020-00427-2

46. Arno A.I., Gauglitz G.G., Barret J.P., Jeschke M.G. Up-to-date approach to manage keloids and hypertrophic scars: A useful guide. *Burn. J. Int. Soc. Burn Inj.* 2014;40:1255–1266. doi: 10.1016/j.burns.2014.02.011.
47. Hu MS, Zielins ER, Longaker MT, Lorenz HP. Scar prevention, treatment, and revision. In: Gurtner GC, Neligan PC, editors. *Plastic Surgery*. Philadelphia, PA: Elsevier; 2018. pp. 196–213.
48. Ekstein SF, Wyles SP, Moran SL, Meves A: Keloids: a review of the therapeutic management. *Int J Dermatol.* 2020, 10.1111/ijd.15159
49. Coentro JQ, Pugliese E, Hanley G, Raghunath M, Zeugolis DI. Current and upcoming therapies to modulate skin scarring and fibrosis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019 Jun;146:37-59.
50. Lee YI, Kim J, Yang CE, Hong JW, Lee WJ, Lee JH. Combined Therapeutic Strategies for Keloid Treatment. *Dermatol Surg.* 2019 Jun;45(6):802-810.
51. Chong Y, Long X, Ho YS. Scientific landscape and trend analysis of keloid research: a 30-year bibliometric review. *Ann Transl Med.* 2021;9(11):945. doi:10.21037/atm-21-508
52. Thornton N J, Garcia B A, Hoyer P, Michael G. Wilkerson: Keloid Scars: An Updated Review of Combination Therapies. *Cureus* 13(1): e12999. doi:10.7759/cureus.12999 (2021)
53. Kelly A.P. Medical and surgical therapies for keloids. *Dermatol. Ther.* 2004;17:212–218. doi: 10.1111/j.1396-0296.2004.04022.x.
54. Ogawa R. Keloids and Hypertrophic Scars Can Now Be Treated Completely by Multimodal Therapy, Including Surgery, Followed by Radiation and Corticosteroid Tape/Plaster. In: Chiriac A., editor. *Scars*. IntechOpen; London, UK: 2019.
55. van Leeuwen M.C., Stokmans S.C., Bulstra A.E., Meijer O.W., Heymans M.W., Ket J.C., Ritt M.J., van Leeuwen P.A., Niessen F.B. Surgical Excision with Adjuvant Irradiation for Treatment of Keloid Scars: A Systematic Review. *Plastic and reconstructive surgery. Glob. Open.* 2015;3:e440. doi: 10.1097/gox.0000000000000357.
56. Shin JY, Yun SK, Roh SG et al. Efficacy of 2 representative topical agents to prevent keloid recurrence after surgical excision. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(2):401.e1–e6.

57. Balaraman B, Geddes ER, Friedman PM. Best reconstructive techniques: improving the final scar. *Dermatol Surg.* 2015;41(Suppl 10):S265–S275.
58. Nguyen KT, Shikowitz L, Kasabian AK, Bastidas N. A novel approach to keloid reconstruction with bilaminar dermal substitute and epidermal skin grafting. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138(1):235–239.
59. Hersant B, SidAhmed-Mezi M, Picard F et al. Efficacy of autologous platelet concentrates as adjuvant therapy to surgical excision in the treatment of keloid scars refractory to conventional treatments: a pilot prospective study. *Ann Plast Surg.* 2018;81(2):170–175.
60. Azzam EZ, Omar SS. Treatment of auricular keloids by triple combination therapy: Surgical excision, platelet-rich plasma, and cryosurgery. *J Cosmet Dermatol.* 2018;17(3):502–510.
61. Jones ME, Ganzer CA, Bennett D, Finizio A. Surgical excision of keloids followed by in-office superficial radiation therapy: prospective study examining clinical outcomes. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2019;7(5):e2212. doi:10.1097/GOX.0000000000002212
62. Qiang S, E-T Yu, Y Zhou, STong, K-J Zhou, S Guo. Individualized surgery combined with radiotherapy and triamcinolone acetonide injection for the treatment of auricular keloids, *BMC Surg actions* 2021 May 22;21(1):256. doi: 10.1186/s12893-021-01253-9.
63. T.Searle , F.R.Ali , F.Al-Niaimi: The role of pharmacogenetics in keloid scar treatment: A literature review 2020 Aug 13;6:2059513120941704. doi: 10.1177/2059513120941704. eCollection Jan-Dec 2020.
64. Berman B, Maderal A, Raphael: Keloids and Hypertrophic Scars: Pathophysiology, Classification, and Treatment. *Dermatol Surg.* 2017 Jan; 43 Suppl 10):S3-S18.
65. Burm JS, Hansen JE.: Full-thickness skin grafting with marginal de-epithelialization of the defect for reconstruction of helical rim keloids. *Ann Plast Surg.* 2010;65(2):193–196.
66. Shin JY, Lee JW, Roh SG, et al.: A comparison of the effectiveness of triamcinolone and radiation therapy for ear keloids after surgical excision: a systematic review and meta-analysis. *Plastic Reconstruct Surg.* 2016, 137:1718-1725. 10.1097/PRS.0000000000002165

67. El-Zawahry BM, Sobhi RM, Bassiouny DA, et al.: Ablative CO 2 fractional resurfacing in treatment of thermal burn scars: an open-label controlled clinical and histopathological study. *J Cosmetic Dermatol.* 2015, 14:324-331. 10.1111/jocd.12163
68. Kraeva E, Ho D, Jagdeo J: Successful treatment of keloid with fractionated carbon dioxide (CO2) laser and laser-assisted drug delivery of triamcinolone acetate ointment in an African-American man. *J Drugs Dermatol.* 2017, 16:925-927.
69. Weshahy AH, Abdel Hay R: Intralesional cryosurgery and intralesional steroid injection: a good combination therapy for treatment of keloids and hypertrophic scars. *Dermatologic Therapy.* 2012, 25:273-276. 10.1111/j.1529-8019.2012.01456.x
70. Khalid FA, Mehrose MY, Saleem M, et al.: Comparison of efficacy and safety of intralesional triamcinolone and combination of triamcinolone with 5-fluorouracil in the treatment of keloids and hypertrophic scars: randomised control trial. *Burns.* 2019, 45:69-75. 10.1016/j.burns.2018.08.011
71. Mankowski P., Kanevsky J., Tomlinson J., Dyachenko A., Luc M. Optimizing Radiotherapy for Keloids: A Meta-Analysis Systematic Review Comparing Recurrence Rates Between Different Radiation Modalities. *Ann. Plast. Surg.* 2017;78:403–411. doi: 10.1097/SAP.0000000000000989.
72. Xu J., Yang E., Yu N.Z., Long X. Radiation Therapy in Keloids Treatment: History, Strategy, Effectiveness, and Complication. *Chin. Med. J.* 2017;130:1715–1721. doi: 10.4103/0366-6999.209896.
73. Park TH, Seo SW, Kim JK. et al.: Outcomes of surgical excision with pressure therapy using magnets and identification of risk factors for recurrent keloids. *Plastic Reconstruct Surg.* 2011, 128:431-439. 10.1097/PRS.0b013e31821e7006
74. Litrowski N, Boullie MC, Dehesdin D, et al.: Treatment of earlobe keloids by surgical excision and cryosurgery. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014, 28:1324-1331. 10.1111/jdv.12282
75. R.Reguła, J.Kempa, J.Piątek, M.Kucharzewski: Miejsce toksyny botulinowej w terapii blizn. *Chirurgia Plastyczna i Oparzeniowa* 2018;6(4):115-120 © Evereth Publishing, 2018

76. Padulla GA, Bagatin E, Hirata SH, Yarak S.: Effect of botulinum toxin type A on the healing of facial skin biopsies – series of cases. *An Bras Dermatol* 2018;93(4):610–611.
77. Lee SH, Min HJ, Kim YW, Cheon YW.: The efficacy and safety of early postoperative botulinum toxin A injection for facial scars. *Aesthetic Plast Surg* 2018;42:530–537.
78. Chen H, Pan W, Zhang J, Cheng H, Tan Q.: The application of W-plasty combined Botox-A injection in treating sunk scar on the face. *Medicine (Baltimore)* 2018;97(30):e11427.
79. Prince G, Cameron M, Fathi R, Alkousakis T. Topical 5-fluorouracil in dermatologic disease. *Int J Dermatol.* 2018;57(10):1259–1264.
80. Wenande E, Olesen UH, Nielsen MM et al. Fractional laser-assisted topical delivery leads to enhanced, accelerated and deeper cutaneous 5-fluorouracil uptake. *Expert Opin Drug Deliv.* 2017;14(3):307–317.
81. Coppola MM, Salzillo R, Segreto F et al. Triamcinolone acetonide intralesional injection for the treatment of keloid scars: patient selection and perspectives. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2018;11:387–396.
82. Khalid FA, Mehrose MY, Saleem M et al. Comparison of efficacy and safety of intralesional triamcinolone and combination of triamcinolone with 5-fluorouracil in the treatment of keloids and hypertrophic scars: randomised control trial. *Burns.* 2019;45(1):69–75.
83. Khan M.A., Bashir M.M., Khan F.A. Intralesional triamcinolone alone and in combination with 5-fluorouracil for the treatment of Keloid and Hypertrophic scars. *J. Pak. Med. Assoc.* 2014;64:1003–1007.
84. Wong T.S., Li J.Z., Chen S., Chan J.Y., Gao W. The Efficacy of Triamcinolone Acetonide in Keloid Treatment: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front. Med.* 2016;3:71. doi: 10.3389/fmed.2016.00071.
85. Niazi, F, Hooshyar, SH, Hedayatyanfard, K, et al. Detection of Angiotensin II and AT1 Receptor Concentrations in Keloid and Hypertrophic Scar. *J Clin Aesthet Dermatol* 2018; 11(10): 36–39.
86. Mirabito Colafella, KM, Bovee, DM, Danser, AHJ. The renin angiotensin aldosterone system and its therapeutic targets. *Exp Eye Res* 2019; 186: 107680.

87. Chen, J, Zhao, S, Liu, Y, et al. Effect of captopril on collagen metabolisms in keloid fibroblast cells. *ANZ J Surg* 2016; 86(12): 1046–1051.
88. Aggarwal H, Saxena A, Lubana PS et al. Treatment of keloids and hypertrophic scars using bleom. *J Cosmet Dermatol*. 2008;7(1):43–49.
89. Manca G, Pandolfi P, Gregorelli C et al. Treatment of keloids and hypertrophic scars with bleomycin and electroporation. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(4):621e–630e.
90. Huu ND, Huu SN, Le Thi X et al. Successful treatment of intralesional bleomycin in keloids of Vietnamese population. *Open Access Maced J Med Sci*. 2019;7(2):298–299.
91. Camacho-Martinez, FM, Rey, ER, Serrano, FC, et al. Results of a combination of bleomycin and triamcinolone acetonide in the treatment of keloids and hypertrophic scars. *An Bras Dermatol* 2013; 88(3): 387–394.
92. Jones ME, McLane J, Adenegan R: et al. Advancing keloid treatment: a novel multimodal approach to ear keloids. *Dermatol Surg*. 2017;43(9):1164–1169.
93. Alexandrescu, D, Fabi, S, Yeh, LC, et al. Comparative Results in Treatment of Keloids With Intralesional 5-FU/Kenalog, 5-FU/Verapamil, Enalapril Alone, Verapamil Alone, and Laser: A Case Report and Review of the Literature. *J Drugs Dermatol* 2016; 15(11): 1442–1447.
94. Saki, N, Mokhtari, R, Nozari, F.: Comparing the Efficacy of Intralesional Triamcinolone Acetonide With Verapamil in Treatment of Keloids: A Randomized Controlled Trial. *Dermatol Pract Concept* 2019; 9(1): 4–9.
95. Kant, SB, van den Kerckhove, E, Colla, C, et al. A new treatment of hypertrophic and keloid scars with combined triamcinolone and verapamil: a retrospective study. *Eur J Plast Surg* 2018; 41(1): 69–80.
96. Khattab, FM, Nasr, M, Khashaba, SA, et al. Combination of pulsed dye laser and verapamil in comparison with verapamil alone in the treatment of keloid. *J Dermatolog Treat* 2020; 31: 186–190.

97. Morelli Coppola, M, Salzillo, R, Segreto, F, et al. Triamcinolone acetonide intralesional injection for the treatment of keloid scars: patient selection and perspectives. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2018; 11: 387–396. S.Sharma, K.Vinay, R.Bassi: Treatment of Small Keloids Using Intralesional 5-fluorouracil and Triamcinolone Acetonide versus Intralesional Bleomycin and Triamcinolone Acetonide, *J Clin Aesthet Dermatol*. 2021 Mar; 14(3): 17–21. Published online 2021 Mar 1. PMID: 33841611
98. Lin, WC, Liou, SH, Kotsuchibashi, Y. Development and Characterisation of the Imiquimod Poly(2-(2-methoxyethoxy)ethyl Methacrylate) Hydrogel Dressing for Keloid Therapy. *Polymers* 2017; 9(11): 579.
99. Trace, AP, Enos, CW, Mantel, A, et al. Keloids and Hypertrophic Scars: A Spectrum of Clinical Challenges. *Am J Clin Dermatol* 2016; 17(3): 201–223.
100. Cacao, FM, Tanaka, V, Messina, MC. Failure of imiquimod 5% cream to prevent recurrence of surgically excised trunk keloids. *Dermatol Surg* 2009; 35(4): 629–633
101. Lee JH, Kim SE, Lee AY. Effects of interferon-alpha2b on keloid treatment with triamcinolone acetonide intralesional injection. *Int J Dermatol*. 2008;47(2):183–186.
102. Lee, HJ, Jang, YJ. Recent Understandings of Biology, Prophylaxis and Treatment Strategies for Hypertrophic Scars and Keloids. *Int J Mol Sci* 2018; 19(3): E711.
103. Euler, T, Valesky, EM, Meissner, M, et al. Normal and keloid fibroblasts are differentially influenced by IFN-gamma and triamcinolone as well as by their combination. *Wound Repair Regen* 2019; 17(10): 12722.
104. Al-Mohamady Ael S, Ibrahim SM, Muhammad MM. Pulsed dye laser versus long-pulsed Nd:YAG laser in the treatment of hypertrophic scars and keloid: a comparative randomized split-scar trial. *J Cosmet Laser Ther*. 2016;18(4):208–212.
105. Azzam OA, Bassiouny DA, El-Hawary MS et al. Treatment of hypertrophic scars and keloids by fractional carbon dioxide laser: a clinical, histological, and immunohistochemical study. *Lasers MedSci*. 2016;31(1):9–18.

106. Ali FR, Al-Niaimi F. Treatment of nonmelanoma skin cancers using laser-assisted drug delivery. *Dermatol Surg.* 2018;44(2):310.
107. Park JH, Chun JY, Lee JH. Laser-assisted topical corticosteroid delivery for the treatment of keloids. *Lasers Med Sci.* 2017;32(3):601–608.
108. Xu C, Ting W, Teng Y, Long X, Wang X. Laser speckle contrast imaging for the objective assessment of blood perfusion in keloids treated with dual-wavelength laser therapy. *Dermatol Surg.* 2021;47(4):e117–e121. doi:10.1097/DSS.0000000000002836
109. Nicoli, F. et al. Correction of cicatricial ectropion using non-ablative fractional laser resurfacing. *Lasers Med. Sci.* 34, 79–84 (2019).
110. Seago, M. et al. Laser treatment of traumatic scars and contractures: 2020 international consensus recommendations. *Lasers Surg. Med.* 52, 96–116 (2020).
111. Scrimali L, Lomeo G, Tamburino S, Catalani A, Perrotta R J: Laser CO2 versus radiotherapy in treatment of keloid scars. *Cosmet Laser Ther.* 2012 Apr; 14(2):94-7.
112. Wagner JA, Paasch U, Bodendorf MO et al. Treatment of keloids and hypertrophic scars with the triple-mode Er:YAG laser: a pilot study. *Med Laser Appl.* 2011;26(1):10–15.
113. Kuo YR, Wu WS, Wang FS: Flashlamp pulsed-dye laser suppressed TGF-beta1 expression and proliferation in cultured keloid fibroblasts is mediated by MAPK pathway. *Lasers Surg Med.* 2007 Apr; 39(4):358-64.
114. Cannarozzo G, Sannino M, Tamburi F, Morini C, Nisticò SP: Flash-lamp pulsed-dye laser treatment of keloids: results of an observational study. *Photomed Laser Surg.* 2015 May; 33(5):274-7.
115. Abdel-Meguid AM, Weshahy AH, Sayed DS, Refaiy AE, Awad SM: Intralesional vs. contact cryosurgery in treatment of keloids: a clinical and immunohistochemical study. *Int J Dermatol.* 2015 Apr; 54(4):468-75.
116. Zaleski-Larsen LA, Fabi SG: Laser-Assisted Drug Delivery. *Dermatol Surg.* 2016 Aug; 42(8):919-31.

117. Cavalié M, Sillard L, Montaudié H, Bahadoran P, Lacour JP, Passeron T: Treatment of keloids with laser-assisted topical steroid delivery: a retrospective study of 23 cases. *Dermatol Ther.* 2015 Mar-Apr; 28(2):74-8.
118. Tanaydin V, Beugels J, Piatkowski A, Colla C, van den Kerckhove E, Hugenholtz GC, van der Hulst RR: Efficacy of custom-made pressure clips for ear keloid treatment after surgical excision. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2016 Jan; 69(1):115-21.
119. Awad SM, Ismail SA, Sayed DS et al. Suppression of transforming growth factor-beta1 expression in keloids after cryosurgery. *Cryobiology.* 2017;75:151–153.
120. Mourad B, Elfar N, Elsheikh S. Spray versus intralesional cryotherapy for keloids. *J Dermatolog Treat.* 2016;27(3):264–269.
121. O'Boyle CP, Shayan-Arani H, Hamada MW. Intralesional cryotherapy for hypertrophic scars and keloids: a review. *Scars Burn Heal.* 2017;3:2059513117702162.
122. Lee S.Y., Park J. Postoperative electron beam radiotherapy for keloids: Treatment outcome and factors associated with occurrence and recurrence. *Ann. Dermatol.* 2015;27:53–58. doi: 10.5021/ad.2015.27.1.53.
123. Winkfield K.M., Iris J.G.B., Tony C.G., Eng Y., Charles R.T. Nonmalignant Disease. In: Halperin E.C., Perez C.A., Brady L.W., editors. *Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology.* 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, PA, USA: 2013. pp. 1749, 2013.
124. Hsueh W.T., Hung K.S., Chen Y.C., Huang Y.T., Hsu C.K., Ogawa R., Hsueh Y.Y. Adjuvant Radiotherapy After Keloid Excision: Preliminary Experience in Taiwan. *Ann. Plast. Surg.* 2019;82:S39–S44. doi: 10.1097/SAP.0000000000001728.
125. Lin Y.F., Shueng P.W., Roan T.L., Chang D.H., Yu Y.C., Chang C.W., Kuo A.T., Chen Y.S., Hsiao H.W., Tien H.J., et al. Tomotherapy as an Alternative Irradiative Treatment for Complicated Keloids. *J. Clin. Med.* 2020;9:3732. doi: 10.3390/jcm9113732.

126. Renz P., Hasan S., Gresswell S., Hajjar R.T., Trombetta M., Fontanesi J. Dose Effect in Adjuvant Radiation Therapy for the Treatment of Resected Keloids. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2018;102:149–154. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.05.027.
127. J-W Lee, K-H Seol: Adjuvant Radiotherapy after Surgical Excision in Keloids, *Medicina (Kaunas)*. 2021 Jul; 57(7): 730. doi: 10.3390/medicina57070730, PMID: PMC8306494, PMID: 34357011
128. Xu J, Yang E, Yu NZ, Long X. Radiation therapy in keloids treatment: history, strategy, effectiveness, and complication. *Chin Med J (Engl)*. 2017;130(14):1715–1721.
129. Goutos I, Ogawa R. Brachytherapy in the adjuvant management of keloid scars: literature review. *Scars Burn Heal*. 2017;3:2059513117735483.
130. Berman B, Nestor MS, Gold MH et al. Low rate of keloid recurrences following treatment of keloidectomy sites with a biologically effective dose 30 of superficial radiation. *The Journal of Cutaneous Medicine*. 2018;2(6):402–403.
131. Renz P, Hasan S, Gresswell S et al. Dose effect in adjuvant radiation therapy for the treatment of resected keloids. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018;102(1):149–154.
132. Bijlard E, Verduijn GM, Harmeling JX et al. Optimal high-dose-rate brachytherapy fractionation scheme after keloid excision: a retrospective multicenter comparison of recurrence rates and complications. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018;100(3):679–686.
133. Maliha Zainib, Neha P. Amin, Radiation Therapy In The Treatment Of Keloids, In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. 2021 Aug 6. Affiliations expand PMID: 29763148 Bookshelf ID: NBK499973
134. Maemoto H, Iraha S, Arashiro K, Ishigami K, Ganaha F, Murayama S. Risk factors of recurrence after postoperative electron beam radiation therapy for keloid: comparison of long-term local control rate. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2020;25(4):606–611. doi:10.1016/j.rpor.2020.05.001

135. Shen J., Lian X., Sun Y., Wang X., Hu K., Hou X., Sun S., Yan J., Yu L., Sun X., et al. Hypofractionated electron-beam radiation therapy for keloids: Retrospective study of 568 cases with 834 lesions. *J. Radiat. Res.* 2015;56:811–817. doi: 10.1093/jrr/rrv031.
136. W.Ting, Y.Chong, J.Xu, J.Huang, N.Yu, Zhifei Liu , Treatment of Keloids Using Plasma Skin Regeneration Combined with Radiation Therapy Under the Evaluation of Patient and Observer Scar Assessment Scale, *Clin Cosmet Investig Dermatolactions* 2021 Aug 5;14:981-989. doi: 10.2147/CCID.S321348. eCollection 2021.
137. Piccolo N.S., Piccolo M.S., Piccolo M.T. Fat grafting for treatment of burns, burn scars, and other difficult wounds. *Clin. Plast. Surg.* 2015;42:263–283. doi: 10.1016/j.cps.2014.12.009.
138. Nam SM, Kim YB. The effects of platelet-rich plasma on hypertrophic scars fibroblasts. *Int Wound J.* 2018;15(4):547–554.
139. Azzam EZ, Omar SS. Treatment of auricular keloids by triple combination therapy: Surgical excision, platelet-rich plasma, and cryosurgery. *J Cosmet Dermatol.* 2018;17(3):502–510.
140. Cao, Y, Gang, X, Sun, C.; et al. Mesenchymal Stem Cells Improve Healing of Diabetic Foot Ulcer. *J Diabetes Res* 2017; 9328347(10): 12.
141. Lee, G, Hunter-Smith, DJ, Rozen, WM. Autologous fat grafting in keloids and hypertrophic scars: a review. *Scars Burn Heal* 2017; 3: 2059513117700157.
142. Williams, EA, Thaller, SR. The Role of Fat Grafting in the Treatment of Keloid Scars and Venous Ulcers. *J Craniofac Surg* 2019; 30(3): 696–697.
143. Yuan, B, Broadbent, JA, Huan, J, et al. The Effects of Adipose Stem Cell-Conditioned Media on Fibrogenesis of Dermal Fibroblasts Stimulated by Transforming Growth Factor-beta1. *J Burn Care Res* 2018; 39(1): 129–140.
144. Wenchang Lv, Min Wu, Yuping Ren, Xiao Luo, Weijie Hu, Qi Zhang, Yiping Wu: Treatment of keloids through Runx2 siRNA-induced inhibition of the PI3K/AKT signaling pathway, *ol Med Repactions* 2021 Jan;23(1):55. doi: 10.3892/mmr.2020.11693. Epub 2020 Nov 17.

145. Liu X, Chen W, Zeng Q, Ma B, Li Z, Meng T, Chen J, Yu N, Zhou Z, Long X. : Single-Cell RNA-Sequencing Reveals Lineage-Specific Regulatory Changes of Fibroblasts and Vascular Endothelial Cells in Keloids. *J Invest Dermatol.* 2022 Jan;142(1):124-135.e11. doi: 10.1016/j.jid.2021.06.010. Epub 2021 Jul 7. PMID: 34242659
146. Sun, P, Hu, Z, Pan, B, et al. Targeting of keloid with TRA-IL and TRAIL-R2/DR5. *J Dermatol Treat* 2020. DOI: 10.1080/09546634.2020.1714541.
147. O'Brien, J, Hayder, H, Zayed, Y, et al. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018; 9: 402.
148. Yan, L, Wang, LZ, Xiao, R, et al. Inhibition of microRNA-21-5p reduces keloid fibroblast autophagy and migration by targeting PTEN after electron beam irradiation. *Lab Invest* 2020; 100: 387–399.
149. T.Zhang, X-F Wang, Z-C Wang, D Lou, Q-Q Fang, Y-Y Hu, W-Y Zhao, L-Y Zhang, L-H Wu, W-Q Tan: Current potential therapeutic strategies targeting the TGF- β /Smad signaling pathway to attenuate keloid and hypertrophic scar formation *Biomed Pharmacother.* 2020 Sep;129:110287. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110287.
150. S. Gupta, et al. Novel combination BMP7 and HGF gene therapy instigates selective myofibroblast apoptosis and reduces corneal haze in vivo *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, 59 (2) (2018), 10.1167/iov.17-23308
151. J. Guo, et al. BMP-7 suppresses excessive scar formation by activating the BMP-7/Smad1/5/8 signaling pathway *Mol. Med. Rep.*, 16 (2) (2017), pp. 1957-1963, 10.3892/mmr.2017.6779

WPŁYW DEPRYWACJI SNU NA FUNKCJONOWANIE CZŁOWIEKA-PODSTAWOWE INFORMACJE DOTYCZĄCE ZAGADNIENIA ORAZ PRZEGŁĄD BADAŃ NAD METODAMI ZAPOBIEGANIA SKUTKOM CHRONICZNEGO NIEWYSPANIA

KATARZYNA GRUDNIK, MAŁGORZATA DYGA, KAROLINA KRUK,
ANNA KOWAL, MARTYNA ŻUREK, ZOFIA GRACA

Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Neurochirurgii w Katowicach,
Wydział Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski, Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt:

W hierarchii potrzeb opracowanej przez Abrahama Masłowa podstawę stanowią potrzeby fizjologiczne, wymagane do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jedną z nich jest sen, na którego deprivację cierpi coraz więcej ludzi na całym świecie. Sen odgrywa znaczącą rolę np. w procesie stabilizacji i integracji pamięci, zachowaniu dobrego zdrowia oraz regeneracji organizmu. James N. Cousins opublikował przegląd, w którym poddano ocenie wyniki badań zdolności mózgu po nocy z danym wariantem snu. Z ich analizy badacz stwierdził, że jakakolwiek deprivacja snu zaburza mechanizmy pamięci krótkotrwałej. Jedną z metod badanych przez specjalistów w ramach zapobiegania skutkom asonii jest zdrowa higiena snu. Przedstawione badania opisują negatywne dla snu skutki użytkowania urządzeń multimedialnych oraz tych emitujących światło niebieskie. Najciekawszym przedstawionym sposobem radzenia sobie ze zmęczeniem jest dzielenie snu, którego wydajność została sprawdzona przez R. Leong i J. Cousins'a. Wykazali oni szereg korzyści związanych z drzemkami zarówno w grupie badanych, którzy regularnie drzemią jak i u grupy, u której jest to rzadkość. Dodatkowe badanie wzbogaciło wyniki o wykluczenie negatywnych skutków dzielenia snu. Aktywność fizyczna również może pomóc w problemach ze snem. Wiele badań prowadzonych w tym temacie porusza temat jogi i jej szeregu korzyści. Badania przekrojowe i epidemiologiczne wykazały związek między czasem snu a dietą. Ciekawe wyniki badania otrzymał S. Yamamura ze swoim zespołem badając sfermentowanie mleko z bakteriami *Lactobacillus helveticus* na grupie 29 ochotników. Równie pozytywne rezultaty otrzymano w badaniu nad sokiem z wiśni czy owocem kiwi. W przeglądzie poruszony zostały również temat napojów energetycznych i ich szkodliwego działania na jakość snu oraz coraz popularniejszego suplementu- Ashwagandhy.

Słowa kluczowe: sen, drzemki, dieta, aktywność fizyczna

Abstract:

The basis of Abraham Maslov's hierarchy of needs is physiological, crucial for the proper functioning of the body. One of them is sleep, from the deprivation of which many people around the world suffer. Sleep plays a significant role e.g. in process of memory stabilization and integration, maintenance of good health, and regeneration of the body. James N. Cousins published

a review that evaluated the results of brain capacity tests after a night with a particular sleep variant. After further analysis, the researchers concluded that even a small amount of sleep deprivation disrupts short-term memory mechanisms. One method being explored by professionals to prevent the effects of chronic sleeplessness is healthy sleep hygiene. The studies presented describe the negative effects on sleep of using multimedia devices and those emitting blue light. The most interesting way of dealing with fatigue presented is sharing sleep, whose efficiency was tested by R. Leong and J. Cousins. They demonstrated several of benefits associated with naps both in the group of subjects who nap regularly and in the group where it is infrequent. An additional study added to the results by ruling out the negative effects of sleep sharing. Physical activity can also help with sleep problems. Many studies conducted on this topic have addressed yoga and its range of benefits. Cross-sectional and epidemiological studies have shown an association between sleep duration and diet. Interesting results were obtained by S. Yamamura with his team testing the influence of fermented milk with *Lactobacillus helveticus* bacteria on a group of 29 volunteers. Equally positive results were obtained in a study on cherry juice or kiwi fruit. The review also touched on energy drinks and their detrimental effects on sleep quality and the increasingly popular supplement Ashwagandha.

Keywords: sleep, napping, diet, physical activity

1. Wstęp

Przewlekła deprivacja snu, która dotyka co najmniej jedną trzecią osób dorosłych, powoduje m. in. senność, zmęczenie i dekoncentrację co zakłóca życie codzienne^{30, 31}.

Sen leży u podstawy piramidy potrzeb Abrahama Masłowa, co oznacza, że jest on niezbędny do prawidłowej pracy organizmu człowieka. Jednym z ważniejszych jego wpływów jest chociażby rola jaką odgrywa w procesie stabilizacji i integracji pamięci, zachowaniu dobrego zdrowia oraz regeneracji organizmu³. W związku z tym, że niedobory snu mogą zagrażać zdrowiu i życiu, jakiegokolwiek ostre przypadki należy konsultować z lekarzem, aby móc rozpocząć odpowiednie leczenie.

Celem tego rozdziału jest przybliżenie czytelnikowi podstawowych informacji z dziedziny somnologii oraz przegląd badań nad metodami zapobiegania skutkom deprivacji snu.

2. Metodologia

Niniejszy rozdział został opracowany na podstawie publikacji naukowych dostępnych w bazach GoogleScholar, PubMed i Scopus. Prace, które zostały zakwalifikowane spełniały następujące warunki: artykuł musi traktować o fizjologii i/lub deprivacji snu, zawierać wyniki z badań nad profilaktyką i/lub skutkami asonii, artykuł zawiera streszczenie, artykuł dotyczy ludzi, artykuł musiał zostać opublikowany po 01.01.2000 r. (wyłączając prace, które dotyczą historii), artykuł musi być dostępny bezpłatnie w pełnej wersji tekstowej.

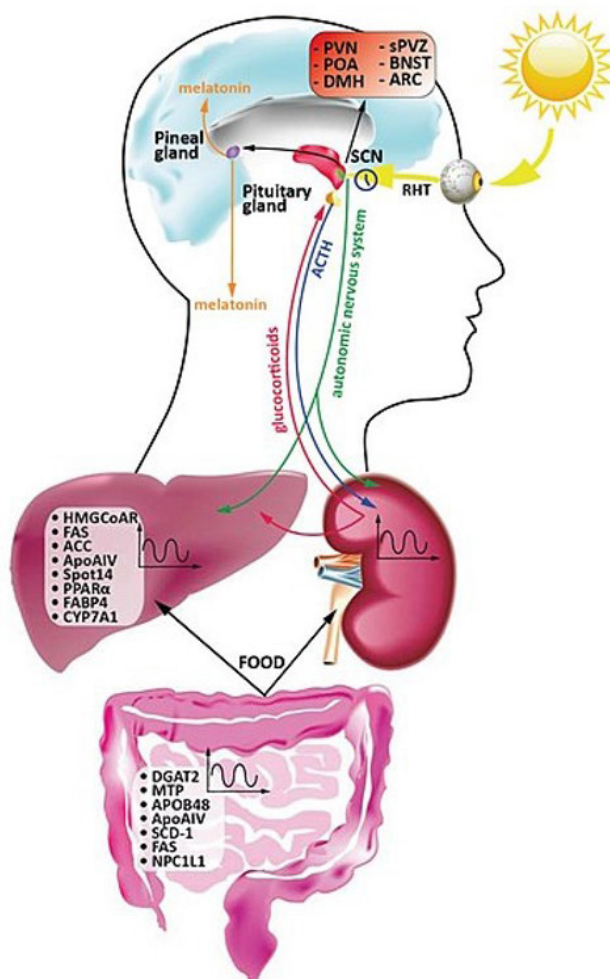
3. Fizjologia

3.1. Mechanizm

Sen jest okresowo występującym stanem fizjologicznym, przeciwnym do stanu czuwania. Ma on kluczowe znaczenie dla zdrowia, nastroju, sprawności umysłowej, jakości pracy i życia społecznego.

Za rytmy okołodobowe na poziomie subkomórkowym odpowiada grupa genów określanych jako geny zegarowe (ang. *clock genes*)³². Wewnętrzny rytm dobowy zachodzi pod wpływem sygnałów pochodzących z ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz zmian rytmu sen-czuwanie. Główną rolę nadrzędnego zegara biologicznego pełnią jądra nadskrzyżowaniowe. Generują one rytmy dobowe zsynchronizowane z cyklem słonecznym. Wykorzystują do tego drogę nerwową siatkówkowo-podwzgórzową (rycina 1).

W nocy, przy ograniczonym dostępie do światła odpowiedzialne są za kontrolowanie produkcji melatoniny przez szyszynkę. Hormon ten wprowadza organizm w stan snu w zależności od jego ilości. Stężenie melatoniny w nocy wzrasta około trzykrotnie u osób starszych, a u młodych nawet dwunastokrotnie. Swoje maksimum osiąga około trzeciej nad ranem. Prowadzone badania nad syntezą melatoniny w organizmie człowieka potwierdziły, że ekspozycja na światło w porze snu powoduje zmniejszenie produkcji i uwalniania tego hormonu³².



Rycina 1 Zależności między centralnymi i obwodowymi elementami składającymi się na zegar biologiczny człowieka. Fale symbolizują regulację dobową. RHT (ang. retinohypothalamic tract): układ siatkówkowo-podwzgórzowy; SCN (ang. suprachiasmatic nucleus): jądro nadskrzyżowaniowe; sPVZ (ang. subparaventricular zone): strefa podkomorowa; POA (ang. preoptic area): obszar przedwzrokowy; BNST (ang. bed nucleus of the stria terminalis): Jądro łożyskowe prążka krawcowego.; ARC (ang. arcuate nucleus): jądro łukowate; DMH (ang. dorsomedial hypothalamus): grzbietowo-przyśrodkowe podwzgórze; PVN (ang. paraventricular nucleus): jądro przykomorowe; ACTH (ang. adrenocorticotrophic hormone): hormon adrenokortykotropowy; HMGCoAR (ang. HMG-CoA Reductase): HMG-CoA reduktaza; FAS (ang. Fatty Acid Synthase): Syntaza kwasów tłuszczowych; ACC (ang. acetyl-CoA carboxylase): karboksylaza acetylo-CoA; ApoAIV (ang. apolipoprotein AIV): apolipoproteina AIV; FABP4 (ang. fatty-acid-binding-protein 4): białko wiążące kwasy tłuszczowe 4; CYP7A1 (ang. cholesterol-7-hydroxylase): cholesterol-7- hydroksylaza; DGAT2 (ang. diacylglycerol acyltransferase 2): acylotransferaza diacyloglicerolu 2; MTP (ang. microsomal triglyceride transfer protein): trójgliceryd mikrosomalny białko transferowe; SCD-1 (ang. stearoyl-CoA desaturase-1): stearoilo-CoA desaturaza-1; NPC1L1(ang. Niemann-Pick C1-like): Niemann-Pick C1; ang. melatonin: melatonina; ang. pineal gland: szyszynka; ang. pituitary: przysadka; ang. autonomic nervous system: autonomiczny system nerwowy; ang. glucocorticoids: glukokortykoidy; ang. food: jedzenie⁴⁶

3.2. Struktura snu

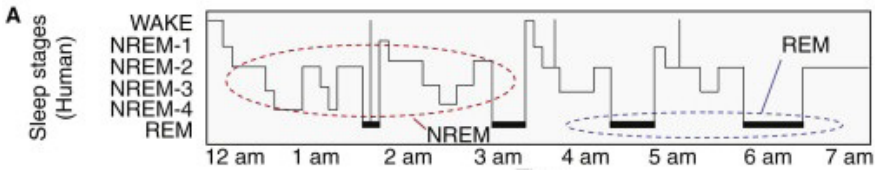
Fizjologicznie prawidłowy sen to szczególny stan, który obejmuje szereg regularnie powtarzających się etapów. Wyróżnia się: sen o wolnych ruchach gałek ocznych (ang. *NREM- non-rapid eye movement*) nazywany też wolno falowym oraz sen o szybkich ruchach gałek ocznych (ang. *REM- rapid eye movement*) inaczej sen paradoksalny.

Sen *NREM* dzieli się na 4 stadia. Stadium I cechuje płytki sen, który trwa kilka minut po zaśnięciu. Mózg przechodzi z fal alfa na fale delta (4 do 7 Hz). Napięcie mięśni w tym stadium ulega zmniejszeniu, a świadoma percepcja otoczenia powoli zanika. Stadium II to etap, w którym dominują fale delta. Dodatkowo występują tzw. wrzeciona snu i kompleksy K. Stadium III obejmuje czas przejścia do głębokiego snu. Przez 20–50% tego okresu dominują fale o częstotliwości 2 Hz lub wolniejsze o amplitudzie nie mniejszej niż 75 μ V. W tej fazie mózg zwalnia swoją pracę. Dochodzi również do najwydajniejszego odpoczynku i regeneracji organizmu. W stadium IV występuje sen głęboki. Szacuje się, że 50% fal mózgowych stanowią w nim fale delta. Charakterystyczne dla tego okresu snu jest też lunatykowanie oraz mówienie przez sen. Jeżeli na tym etapie dojdzie do przebudzenia to taka osoba będzie odczuwać zmęczenie, senność i zdezorientowanie.

Po trwającej 80 do 100 minut fazie *NREM* następuje *REM*, której czas trwania wynosi około 15 minut. Zapis z elektroencefalografii (EEG) przypomina stadium I snu *NREM*, ponieważ dominują w nim fale delta, jednak na tym etapie pojawiają się gwałtowne, bezkierunkowe ruchy gałek ocznych. Faza *REM* charakteryzuje się występowaniem marzeń sennych i maksymalnym rozluźnieniem mięśni szkieletowych (z wyjątkiem mięśni gałek ocznych). Na tym etapie następuje również aktywacja większości wegetatywnych mechanizmów związanych m. in. ze wzrostem ciśnienia krwi, przyspieszeniem oddechu i częstotliwości akcji serca. W tej fazie uwalniany jest hormon stresu- adrenalina, co jest przyczyną zwiększonego ryzyka zawałów serca podczas snu. W przypadku gwałtownego wybudzenia się ze snu w fazie *REM* może dochodzić do wystąpienia zjawiska paraliżu sennego. Jest to stan, w którym osoba zachowuje pełną świadomość, ale mięśnie są sparaliżowane (wyjątek stanowią mięśnie gałek ocznych i mięśnie oddechowe). Brak możliwości poruszania się jest stanem fizjologicznym, aby zapobiec wykonywaniu przypadkowych ruchów ciała podczas snu. W czasie paraliżu sennego nierzadko dochodzi również do przyspieszenia akcji serca, uczucia strachu czy wystąpienia halucynacji wzrokowych, słuchowych jak i dotykowych. Taki stan trwa około kilka minut i przechodzi

samoistnie. Jednakże spokojne przebudzenie się podczas trwania fazy *REM* będzie cechowało się odczuciem wypoczęcia i rzeźkości.

U osób dorosłych cykl występowania *NREM* i *REM* powtarza się od czterech do pięciu razy w ciągu nocy. Struktura snu została przedstawiona na rysunku 2.



Rycina 2 Etapy i struktura snu NREM i REM³³

3.3. Zapotrzebowanie

Zapotrzebowanie na sen jest cechą indywidualną. Zależy od wielu czynników m. in. genów, wieku, płci, stylu życia, stanu zdrowia, odżywiania, stopnia zmęczenia oraz czynników zewnętrznych jak poziom hałasu, lokalizacja, pora roku, pogoda itp^{34, 35}.

W tabeli 1 przedstawiono rekomendowane długości snu dla danych grup wiekowych.

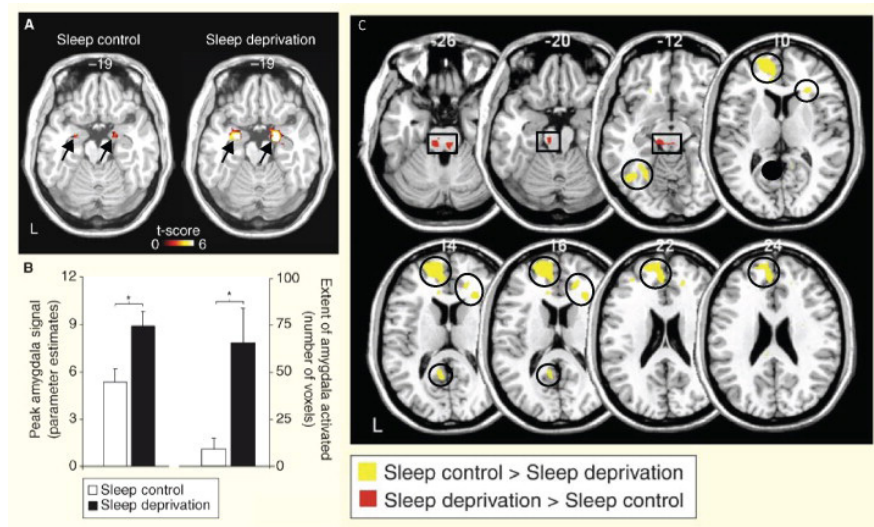
Tabela 1 Zalecane, dopuszczalne i odradzane długości snu ze względu na przedział wiekowy³⁶

Wiek	Zalecane, h	Dopuszczalna ilość snu na dobę, h	Odradzana ilość snu na dobę, h
Noworodki 0-3 mies	14 do 17	11 do 13 18 do 19	Mniej niż 11 Ponad 19
Niemowlęta 4-11 miesięcy	12 do 15	10 do 11 16 do 18	Mniej niż 10 Ponad 18
Małe dzieci 1-2 lata	11 do 14	9 do 10 15 do 16	Mniej niż 9 Ponad 16
Przedшкоłaki 3-5 lat	10 do 13	8 do 9 14	Mniej niż 8 Ponad 14
Dzieci w wieku szkolnym 6-13 lat	9 do 11	7 do 8 12	Mniej niż 7 Ponad 12
Nastolatki 14-17 lat	8 do 10	7 11	Mniej niż 7 Więcej niż 11
Młodzi dorośli 18-25 lat	7 do 9	6 10 do 11	Mniej niż 6 Więcej niż 11
Dorośli ludzie 26-64 lat	7 do 9	6 10	Mniej niż 6 Więcej niż 10
Starsi dorośli ≥65 lat	7 do 8	5 do 6 9	Mniej niż 5 Więcej niż 9

3.4. Objawy i skutki niedoboru snu

Terminem deprywacji snu określa się pozbawianie jednostki możliwości zaspokojenia potrzeby snu poprzez skracanie zaleczonego czasu spania³². Objawy słabego lub niewystarczającego snu są zauważalne praktycznie natychmiastowo³⁰. Należą do nich m. in. zmęczenie psychiczne, fizyczne, senność czy złe samopoczucie. Sen pełni również kluczową rolę w procesie nauki³. Dowiedziono, że osoba pozbawiona snu nie jest w stanie skoncentrować się na przyswajaniu nowych informacji, w związku z tym nie może się efektywnie uczyć. Brak snu zakłóca również konsolidację i integrację pamięci²³.

Na rycinie 3 przedstawiono zdjęcia z neuroobrazowania uczestników badania, którzy skupiali się na wykonywaniu otrzymanych zadań³⁹. Żółty kolor przedstawia aktywne obszary w mózgu osób, które były wyspane, a kolor czerwony aktywne obszary u osób, które były niewyspane. U uczestników, którzy byli wypoczęci były pobudzane głównie obszary kory przedczołowej, dzięki której łatwiej odzyskiwali oni utracone skupienie. Druga grupa badanych osób wykazywała się gorszą koncentracją. Ponadto ich ciało migdałowate charakteryzowało się dużą aktywnością, co skutkowało większą emocjonalnością grupy niewyspanej podczas wykonywania testów.



Rycina 3 Zapisy z neuroobrazowania aktywności mózgu podczas wykonywania zadania po danym wariancie snu³⁹. Kolorem żółtym oznaczono obszary, które były pobudzane w momencie skupiania się na zadaniu u osób, które się wyspały. Kolorem czerwonym aktywne obszary mózgu u osób, które były niewyspane. Wykres przedstawia poziom aktywności ciała migdałowatego u osób wyspanych (biała kolumna) i niewyspanych (czarna kolumna)

4. Badania nad metodami profilaktyki

4.1. Nawyki przed snem

Walcząc ze skutkami deprywacji snu najlepiej jest naprawić problem u źródła. Obecny świat dostarcza ludziom natłok informacjami, a wszechobecność elektroniki nie pomaga wyciszyć organizmu przed snem.

Naukowcy odkryli związek między używaniem smartfonów, a słabą jakością snu, wywoływaną przez odbieranie wiadomości tekstowych i połączeń telefonicznych, ekspozycję na niebieskie światło z ekranów telefonów podczas korzystania z Internetu, słuchania muzyki, styczności z treściami zawierającymi przemoc, treści seksualne itp.^{40, 41}. Chociaż całkowite zaprzestanie korzystania z telefonu będzie niemożliwe, należy zrozumieć wpływ urządzeń elektronicznych (o różnych porach dnia) na jakość snu użytkowników, aby zidentyfikować potencjalne zalecenia lub rozwiązania.

K. M. Orzech wraz ze swoim zespołem przeprowadzili badanie związane z wpływem mediów cyfrowych na jakość snu u studentów uczelni wyższych⁹. Brak negatywnych skutków związanych z korzystaniem z mediów przed snem był zauważalny w grupie badanych, którzy przestali używać urządzeń 2 godziny przed zaśnięciem.

Następną z proponowanych metod zapobiegania działaniu czynników powodujących asomnie jest blokowanie światła niebieskiego^{10, 11}. Udowodniono, że noszenie okularów filtrujących omawiane światło jest skuteczną interwencją poprawiającą jakość snu, produktywność w pracy i zorganizowanie w życiu codziennym. Stosowanie filtra światła niebieskiego w telefonach daje podobne efekty.

4.2. Sen segmentowy oraz drzemki

Przed erą elektryczności ludzie chodzili spać i budzili się z rytmem słońca. Na północnych szerokościach geograficznych, w okresach zimowych, kiedy noc jest wydłużona, mieszkańcy budzili się w środku nocy na jedną do trzech godzin, po czym zapadali w dalszy sen, który trwał już do świtu⁴². Jest to tzw. sen segmentowy.

W związku z ciągle narastającym problemem asomnie badacz J. N. Cousins przeprowadził badanie wpływu podziału snu na pamięć długotrwałą¹³. Grupę 112 nastolatków podzielił na cztery grupy eksperymentalne: 8-godzinna ciągłą, 8-godzinna podzieloną, 6,5-godzinna ciągłą oraz 6,5-godzinna podzieloną.

Grupy, których sen był dzielony odbywały dodatkowo 90-minutowe popołudniowe drzemki. Pamięć deklaratywną oceniano za pomocą kodowania obrazu i zadań sprawdzających wiedzę faktograficzną. Dzięki wprowadzeniu drzemek znacznie poprawiły się wyniki w grupach osób śpiących zarówno po 6,5 godziny, jak i 8 godzin. Dzielenie snu również znacznie zmniejszyło energię fal wolnych podczas snu nocnego, co sugeruje niższe ciśnienie homeostatyczne podczas spania w ciągu dnia. Pomimo skrócenia czasu snu nocnego nie stwierdzono negatywnego wpływu podzielonego harmonogramu na wydajność poranną. Wyniki te sugerują, że drzemki można włączyć do codziennego harmonogramu snu, który zapewnia wystarczającą ilość odpoczynku i przynosi korzyści w procesie nauki.

Kolejne badania z tego zakresu dotyczyły porównania wydajności pamięci po drzemkach nawykowych i nie nawykowych¹². Wyniki dowodzą, że popołudniowa, 90 minutowa drzemka wzmocniła proces kodowania obrazu i przyswajania wiedzy faktograficznej, niezależnie od tego, czy osoba drzemała nawykowo czy też nie. Odkryto również interakcję hipokampa w przypadku zadań związanych z pamięcią topograficzną, jednak korzyści uzyskiwały tylko osoby drzemiące nawykowo (*Habitual nappers (HN)*- jedna lub więcej drzemek na tydzień). W tym samym zadaniu ta sama grupa, ale pozbawiona drzemek uzyskiwała znacznie gorsze wyniki. Opisywane badanie dowiodło, że popołudniowa drzemka jest korzystna w przypadku zadań związanych z pamięcią długotrwałą, nawet jeśli nie drzemie się zwyczajowo. Dodatkowo drzemanie nawykowe poprawia wyniki w zadaniach związanych z krótkotrwałą pamięcią topograficzną.

4.3. Aktywność fizyczna

Wpływ ćwiczeń na sen jest zależny od wielu różnych czynników. Należą do nich indywidualne cechy jak płeć, wiek, poziom sprawności fizycznej oraz rodzaj wykonywanych ćwiczeń w tym ich intensywność, czas trwania oraz środowisko, w którym są wykonywane.

Przeprowadzone badania nad wpływem intensywnych treningów u kobiet od czterech do ośmiu godzin przed snem wykazały poprawę czasu zasypiania i skrócenie czasu czuwania po zaśnięciu^{17, 18}. Negatywny wpływ ćwiczeń na sen (opóźnienie czasu zaśnięcia i wydłużenie czasu czuwania) był zauważalny w grupie uczestniczek prowadzących siedzący tryb życia, gdy ich trening odbył się wcześniej niż 8 godzin lub krócej niż 4 godziny przed zaśnięciem. Otrzymane wyniki zaprzeczają długoletnim wskazówkom dotyczącym higieny snu,

które głoszą, żeby nie ćwiczyć przed snem. W oparciu o to National Sleep Foundation zmieniło swoje zalecenia dla osób niemających problemów ze snem co do pory treningów o ile nie odbywa się to kosztem długości snu. Ma to na celu zachęcenie ludzi do aktywności fizycznej.

Wpływ regularne uprawianego sportu został sprawdzony na grupie 51 uczestników¹⁹. Nastolatki przez 3 tygodnie poświęcali 30 minut czasu na ćwiczenia o umiarkowanej intensywności każdego ranka. Wykazano poprawę obiektywnego czasu trwania i wydajności snu, przyspieszenie czasu zasypiania i opóźnienie fazy *REM*. Ponadto badana młodzież zgłaszała poprawę subiektywnej jakości snu, nastroju i koncentracji w ciągu dnia. Badacze wnioskują, że bardziej korzystne są umiarkowane ćwiczenia aerobowe niż oporowe w celu poprawy jakości snu²⁰. Zaznaczają, że aktywność fizyczna powinna być dopasowana do indywidualnych cech i potrzeb każdego człowieka. Przypominają, że u osób z problemami z układem sercowo-naczyniowym intensywny wysiłek fizyczny może być obciążony zagrożeniem niepożądanych zdarzeń sercowych.

Szczególną uwagę poświęca się badaniu wpływu jogi w leczeniu przewlekłej bezsenności²¹⁻²⁴. Joga to forma ćwiczeń, które koncentrują się na sile, elastyczności i oddechu w celu poprawy zdrowia fizycznego, psychicznego i duchowego. Istnieje wiele różnych stylów jogi różniących się od siebie intensywnością treningu, koncentracją na poszczególne obszary ciała, postawą czy sposobem oddychania. Badania wykazują zbawienny wpływ tej aktywności na zmniejszenie zmęczenia, poprawy nastroju i jakości snu²³. Joga zwiększa poziom melatoniny, zmniejsza ogólne pobudzenie i wspomaga radzenie sobie z zaburzeniami rytmu serca i układu oddechowego związanymi ze stresem. Większość badań, które jednoznacznie potwierdziły pozytywny wpływ jogi na poprawę jakości snu dotyczyły jogi *Kundalini*, *Nidra* i *Bikram*^{21, 22, 24}.

4.4. Dieta

Na całym świecie można spotkać różne tradycyjne produkty spożywcze mające na celu poprawę jakości snu.

Jedną z popularniejszych metod na zachodzie jest picie krowiego mleka, którego działanie zostało przebadane w XX wieku⁴³. Uczestnicy badania po spożyciu płatków kukurydzianych z mlekiem nie zgłaszali epizodów przebudzeń. Wnioskuje się, że właściwości krowiego mleka wynikają z zawartej w nim melatoniny, która jest jego naturalnym składnikiem. Co ciekawe jej stężenie jest wyższe, gdy krowy są dojne nocą⁴⁴.

Równie częstą praktyką jest stosowanie ziół. Badania przeprowadzone z użyciem produktów na bazie roślin leczniczych uważanych za naturalne preparaty nasenne, takich jak rumianek nie potwierdziły jednoznacznie większych korzyści związanych ze snem⁴⁵.

Niedawno przeprowadzone badania sugerują, że niektóre owoce sprzyjają zasypianiu. Wykazano, że świeży sok wiśniowy, spożywany dwa razy dziennie powodował zmniejszenie bezsenności oraz skrócenie czasu zasypiania²⁶. Badanie na owocu kiwi wykazało podobne korzyści²⁷. Grupa badana po 4 tygodniach spożywania 2 owoców kiwi na godzinę przed snem zgłaszała poprawę jakości i czasu snu.

Faktem jest, że stan mikroflory jelitowej wpływa na zdrowie człowieka⁴³. Mikrobiom poprzez wytwarzanie różnych substancji lub bezpośrednie działanie może wpływać m. in. na układ odpornościowy, nerwowy czy hormonalny. Dzięki tym zróżnicowanym mechanizmom drobnoustroje jelitowe kształtują architekturę snu i reaktywność na stres osi podwzgórze-przysadka-nadnercza. Wpływają również na pamięć, nastrój i funkcje poznawcze człowieka. W 2007 roku przeprowadzono badanie nad wpływem sfermentowanego mleka zawierającego bakterie *Lactobacillus helveticus* na sen i zdrowie u osób starszych. Po 3 tygodniach spożywania 100 g napoju poprawiła się jakość snu oraz zmniejszyła się ilość przebudzeń²⁵.

W dzisiejszych czasach dużą popularność zyskały napoje energetyczne. Produkty tego typu zwykle zawierają kofeinę, taurynę i guaranę. Składniki te mają na celu polepszyć zdolności kognitywne, uwagę oraz nastrój. Coraz częściej specjaliści ostrzegają przed ich negatywnym działaniem na sen. Badanie przeprowadzone na grupie 2458 studentów potwierdziło, że picie napojów energetycznych i tych zawierających kofeinę powoduje zwiększenie ryzyka złej jakości snu objawiającej się trudnościami z zasypianiem i skróceniem czasu spania²⁸. W tabeli 2 przedstawiono rozkład sześciu skal jakości snu według płci. Około 39% uczniów zgłosiło krótki czas snu (5 godzin lub mniej), długi czas zasypiania (dłużej niż 30 minut), 24,4% uczestników skarżyło się na częste problemy z zasypianiem (jeden lub więcej epizodów w tygodniu). Około 2% studentów zgłosiło stosowanie leków nasennych w ilości większej niż jedna dawka na tydzień w miesiącu poprzedzającym badanie, a 19,3% uczestników zostało sklasyfikowanych jako mających słabą wydajność snu. Uczennice częściej doświadczały krótkiego czasu spania, długiego zasypiania, słabej wydajności snu oraz większej dysfunkcji w ciągu dnia z powodu asonii niż badani mężczyźni. Również studentki częściej stosowały leki nasenne (trzy epizody w tygodniu

lub więcej)). Badacze zalecają unikać nadmiernego spożywania kofeiny oraz napojów energetycznych w celu zmniejszenia problemów ze snem.

Tabela 2 Wyniki kwestionariusza jakości snu Pittsburgh (Pittsburgh Sleep Quality Index- PSQI) badanych studentów, według płci²⁸

	Wszystkie N=2458	Mężczyzna N=965	Kobieta N=1,493	* – Wartość P
Charakterystyka	n (%)	n (%)	n (%)	
Czas snu (godziny)				
≤5.0	964 (39.2)	373 (38.7)	591 (39.6)	<0.001
5.1–6.0	785 (31.9)	341 (35.3)	444 (29.7)	
6.1–7.0	389 (15.9)	157 (16.3)	232 (15.5)	
≥7.1	320 (13.0)	94 (9.7)	226 (15.1)	
Opóźnienie snu (minuty)				
≤15	882 (35.9)	375 (38.9)	507 (33.9)	<0.001
16–30	975 (39.7)	328 (34.0)	647 (43.3)	
31–60	531 (21.6)	245 (25.4)	286 (19.2)	
≥60	70 (2.8)	17 (1.8)	53 (3.6)	
Dysfunkcja dnia z powodu utraty snu				
Nigdy	318 (12.9)	136 (14.1)	182 (12.2)	0.013
< raz w tygodniu	1,351 (55.0)	555 (57.5)	796 (53.3)	
1-2 razy w tygodniu	637 (25.9)	225 (23.3)	412 (27.6)	
≥3 razy w tygodniu	152 (6.2)	49 (5.1)	103 (6.9)	
Efektywność snu (%)				
≥85	2,007 (81.7)	792 (82.1)	1,215 (81.4)	<0.001
75–84	317 (12.9)	141 (14.6)	176 (11.8)	
65–74	84 (3.4)	19 (1.9)	65 (4.3)	
< 65	50 (2.0)	13 (1.4)	37 (2.5)	
Stosowanie leków nasennych				
Nigdy	2,298 (93.5)	917 (94.9)	1,381 (92.5)	0.012
< raz w tygodniu	108 (4.4)	28 (3.1)	80 (5.4)	
1-2 razy w tygodniu	41 (1.7)	18 (1.8)	23 (1.5)	
≥3 razy w tygodniu	11 (0.4)	2 (0.2)	9 (0.6)	
Jakość snu				
Nie	1,084 (44.1)	463 (48.0)	621 (41.6)	0.002
Tak	1,374 (55.9)	502 (52.0)	872 (58.4)	

4.5. Suplementacja

Ashwagandha, nazywana także indyjskim żeń szeniem czy witanią ospałą to roślina naturalnie występuje w Afryce, Azji południowej oraz na południu Europy. Jej korzenie i owoce są wykorzystywane w hinduskiej medycynie ludowej (Ayurweda), a w ostatnich latach zyskują popularność jako suplement diety. Jest reklamowana jako pomoc w m. in. zmniejszeniu zaburzeń organizmu wywołanych stresem, ma pozytywnie wpływać na układ nerwowy i immunologiczny, zmniejszać uczucie zmęczenia oraz poprawiać jakość snu.

W 2020 roku przeprowadzono randomizowane, podwójnie ślepe badanie oceniające wpływ ashwagandhy na jakość snu u zdrowych dorosłych²⁹. Przez sześć tygodni podawano 150 uczestnikom raz dziennie 120 mg standaryzowanego ekstraktu z ashwagandhy. Badanie ukończyło 144 uczestników (6 osób zrezygnowało z powodu zdarzeń niepożądanych). W grupie, która otrzymywała omawiany suplement aż 72% osób stwierdziło polepszenie jakości snu. Dodatkowo zaobserwowano poprawę całkowitego czasu snu i skrócenie czasu zasypiania.

5. Podsumowanie

Deprywacja snu dotyka coraz więcej osób na całym świecie, a jej skutki mogą mieć poważne konsekwencje zdrowotne. W jakichkolwiek ostrych przypadkach niedoboru snu należy skonsultować się z lekarzem, aby móc w odpowiedni sposób rozpocząć leczenie. Powyższy przegląd to jedynie przedstawienie wyników badań nad metodami mającymi poprawić jakość snu.

Najrozsądniejszym opisanym sposobem zapobiegania skutkom asonii jest utrzymywanie dobrej higieny snu, ponieważ jest to naprawa problemu u źródła. Dzisiejszy świat dostarcza ogromną liczbę informacji, które utrudniają uspokojenie się, co jest szczególnie ważne przed zaśnięciem. Unikanie urządzeń medialnych na 2 godziny przed snem oraz stosowanie okularów czy filtrów światła niebieskiego według badań skraca czas zasypiania i wydłuża czas całkowity snu.

Dodatkowo wzbogacenie swojej codziennej rutyny o umiarkowane ćwiczenia aerobowe czy jogę według badań również mogą pozwolić na poprawę jakości snu oraz zmniejszyć skutki stresu.

Deprywacja snu utrudnia proces skupiania się i nauki. Zaproponowane przez James'a N. Cousins'a drzemki redukują uczucie zmęczenia i poprawiają umiejętność zapamiętywania.

Obiecującym sposobem przeciwdziałania skutkom asonii wydaje się również ekstrakt z ashwagandhy, który w badaniu wykazał się dużym procentem skuteczności zarówno w poprawie jakości snu jak i radzeniu sobie z następstwami stresu.

Referencje

1. Pavlova, Milena K., and Véronique Latreille. "Sleep disorders." *The American Journal of Medicine* 132.3 (2019): 292-299.
2. Leong, Ruth LF, et al. "Memory performance following napping in habitual and non-habitual nappers." *sleep* 44.6 (2021): zsaa277.
3. Cousins, James N., and Guillén Fernández. "The impact of sleep deprivation on declarative memory." *Progress in brain research* 246 (2019): 27-53.
4. Knutson, Kristen L., et al. "Association between sleep and blood pressure in midlife: the CARDIA sleep study." *Archives of internal medicine* 169.11 (2009): 1055-1061.
5. Young, Martin E., et al. "Intrinsic diurnal variations in cardiac metabolism and contractile function." *Circulation research* 89.12 (2001): 1199-1208.
6. King, Christopher Ryan, et al. "Short sleep duration and incident coronary artery calcification." *Jama* 300.24 (2008): 2859-2866.
7. Pries, Axel R., et al. "A review of methods for assessment of coronary microvascular disease in both clinical and experimental settings." *Cardiovascular research* 80.2 (2008): 165-174.
8. Lyons, Lisa C., et al. "Translational changes induced by acute sleep deprivation uncovered by TRAP-Seq." *Molecular brain* 13.1 (2020): 1-18.
9. Orzech, Kathryn M., et al. "Digital media use in the 2 h before bedtime is associated with sleep variables in university students." *Computers in human behavior* 55 (2016): 43-50.
10. Guarana, Cristiano L., Christopher M. Barnes, and Wei Jee Ong. "The effects of blue-light filtration on sleep and work outcomes." *Journal of Applied Psychology* 106.5 (2021): 784.

11. Janků, Karolina, et al. "Block the light and sleep well: Evening blue light filtration as a part of cognitive behavioral therapy for insomnia." *Chronobiology international* 37.2 (2020): 248-259.
12. Leong, Ruth LF, et al. "Memory performance following napping in habitual and non-habitual nappers." *sleep* 44.6 (2021): zsaa277.
13. Cousins, James N., et al. "Splitting sleep between the night and a daytime nap reduces homeostatic sleep pressure and enhances long-term memory." *Scientific reports* 11.1 (2021): 1-15.
14. Knufinke, Melanie, et al. "Train hard, sleep well? Perceived training load, sleep quantity and sleep stage distribution in elite level athletes." *Journal of science and medicine in sport* 21.4 (2018): 427-432.
15. Kubitz, Karla A., et al. "The effects of acute and chronic exercise on sleep." *Sports Medicine* 21.4 (1996): 277-291.
16. Youngstedt, Shawn D., Patrick J. O'connor, and Rod K. Dishman. "The effects of acute exercise on sleep: a quantitative synthesis." *Sleep* 20.3 (1997): 203-214.
17. Driver, Helen S., et al. "Submaximal exercise effects on sleep patterns in young women before and after an aerobic training programme." *Acta Physiologica Scandinavica* 133.574 (1988): 8-13.
18. Torsvall, Lars, Torbjörn Åkerstedt, and Lindbeck Göran. "Effects on sleep stages and EEG power density of different degrees of exercise in fit subjects." *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 57.4 (1984): 347-353.
19. Kalak, Nadeem, et al. "Daily morning running for 3 weeks improved sleep and psychological functioning in healthy adolescents compared with controls." *Journal of Adolescent Health* 51.6 (2012): 615-622.
20. Chennaoui, Mounir, et al. "Sleep and exercise: a reciprocal issue?" *Sleep medicine reviews* 20 (2015): 59-72.
21. Khalsa, Sat Bir S., and Michael R. Goldstein. "Treatment of chronic primary sleep onset insomnia with Kundalini yoga: a randomized controlled trial with active sleep hygiene comparison." *Journal of Clinical Sleep Medicine* 17.9 (2021): 1841-1852.

22. Datta, Karuna, Manjari Tripathi, and Hruda Nanda Mallick. "Yoga Nidra: An innovative approach for management of chronic insomnia-a case report." *Sleep Science and Practice* 1.1 (2017): 1-11.
23. Wang, Wei-Li, et al. "The effect of yoga on sleep quality and insomnia in women with sleep problems: a systematic review and meta-analysis." *BMC psychiatry* 20.1 (2020): 1-19.
24. Kudesia, Ravi S., and Matt T. Bianchi. "Decreased nocturnal awakenings in young adults performing bikram yoga: a low-constraint home sleep monitoring study." *International Scholarly Research Notices* 2012 (2012).
25. Yamamura, Schuhei, et al. "The effect of *Lactobacillus helveticus* fermented milk on sleep and health perception in elderly subjects." *European journal of clinical nutrition* 63.1 (2009): 100-105.
26. Pigeon, Wilfred R., et al. "Effects of a tart cherry juice beverage on the sleep of older adults with insomnia: a pilot study." *Journal of medicinal food* 13.3 (2010): 579-583.
27. Lin, Hsiao-Han, et al. "Effect of kiwifruit consumption on sleep quality in adults with sleep problems." *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 20.2 (2011): 169-174.
28. Sanchez, Sixto E., et al. "Sleep quality, sleep patterns and consumption of energy drinks and other caffeinated beverages among Peruvian college students." *Health* 5.8B (2013): 26.
29. Deshpande, Abhijit, et al. "A randomized, double blind, placebo controlled study to evaluate the effects of ashwagandha (*Withania somnifera*) extract on sleep quality in healthy adults." *Sleep medicine* 72 (2020): 28-36.
30. Chokroverty, Sudhansu. "Overview of sleep & sleep disorders." *Indian J Med Res* 131.2 (2010): 126-140.
31. Liu, Yong, et al. "Prevalence of healthy sleep duration among adults—United States, 2014." *Morbidity and Mortality Weekly Report* 65.6 (2016): 137-141.
32. Dopierała, Ewa, and Janusz Rybakowski. "Sleep deprivation as a method of chronotherapy in the treatment of depression." *Psychiatr Pol* 49.3 (2015): 423-433.

33. Abel, Ted, et al. "Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks." *Current biology* 23.17 (2013): R774-R788.
34. Pellegrino, Renata, et al. "A novel BHLHE41 variant is associated with short sleep and resistance to sleep deprivation in humans." *Sleep* 37.8 (2014): 1327-1336.
35. Mattingly, Stephen M., et al. "The effects of seasons and weather on sleep patterns measured through longitudinal multimodal sensing." *NPJ digital medicine* 4.1 (2021): 1-15.
36. Hirshkowitz, Max, et al. "National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary." *Sleep health* 1.1 (2015): 40-43.
37. Ellenbogen, Jeffrey M., Jessica D. Payne, and Robert Stickgold. "The role of sleep in declarative memory consolidation: passive, permissive, active or none?" *Current opinion in neurobiology* 16.6 (2006): 716-722.
38. Cousins, James N., and Guillén Fernández. "The impact of sleep deprivation on declarative memory." *Progress in brain research* 246 (2019): 27-53.
39. Killgore, William DS. "Effects of sleep deprivation on cognition." *Progress in brain research* 185 (2010): 105-129.
40. Levenson, Jessica C., et al. "Social media use before bed and sleep disturbance among young adults in the United States: A nationally representative study." *Sleep* 40.9 (2017).
41. Vhaduri, Sudip, and Christian Poellabauer. "Impact of different pre-sleep phone use patterns on sleep quality." 2018 IEEE 15th International Conference on Wearable and Implantable Body Sensor Networks (BSN). IEEE, 2018.
42. Ekirch, A. Roger. *At day's close: night in times past*. WW Norton & Company, 2006
43. Peuhkuri, Katri, Nora Sihvola, and Riitta Korpela. "Diet promotes sleep duration and quality." *Nutrition research* 32.5 (2012): 309-319.

44. Eriksson, L., et al. "Diurnal rhythm of melatonin in bovine milk: pharmacokinetics of exogenous melatonin in lactating cows and goats." *Acta Veterinaria Scandinavica* 39.3 (1998): 301-310.
45. Wheatley, David. "Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability." *Journal of psychopharmacology* 19.4 (2005): 414-421.
46. Gnocchi, Davide, et al. "Lipids around the clock: focus on circadian rhythms and lipid metabolism." *Biology* 4.1 (2015): 104-132.

NOWE ROZWIĄZANIA W LECZENIU ZABURZEŃ OSOBOWOŚCI TYPU *BORDERLINE*

HONORATA BUNIEWSKA¹, DARIA CHŁOSTA¹, KAROLINA CECERKO¹,
MARTYNA GIAŁBAS², KAROL KRYSZEK³, STANISŁAW ANCZYK⁴

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Psychiatrii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Biofizyki im. Prof. Zbigniewa Religi w Zabrze, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakologii w Zabrze, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
4. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Dermatologii Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt

Zaburzenia osobowości to trwałe wzorce niefunkcjonalnego postępowania, które odbiegają od oczekiwań społeczeństwa, powodują niepokój wynikający z zachowania odmiennego od powszechnie panujących norm kulturalnych i społecznych. Dotykają one nawet do 9,1% społeczeństwa. Jedynym z najczęściej diagnozowanych zaburzeń osobowości jest osobowość typu *borderline*, której występowanie waha się od 0,7 do nawet 2%, szczególnie wśród kobiet (70-75% przypadków). Ponadto, wykrycie zaburzeń osobowości typu *borderline* jest trudne z uwagi na wiele podobieństw do afektywnej choroby dwubiegunowej i jej współwystępowanie z depresją i innymi zaburzeniami psychicznymi. Przez wiele lat uważano, że zaburzenie osobowości typu *borderline* trudno jest leczyć, ostatnie badania pokazują jednak, że możliwa jest skuteczna walka z nim za pomocą innowacyjnych terapii. Terapie - szczególnie terapie behawioralne i psycho-terapia psychoanalityczna - skupiają się na centralnej cesze zaburzenia, jaką jest niestabilność w wielu aspektach życia i pomagają pacjentom zapanować na uczuciem pustki. Oddziaływanie farmakologiczne ma charakter dodatkowy, wspomaga proces leczenia. Do najczęściej stosowanych leków zalicza się "stabilizatory nastroju" i niewielkie ilości leków przeciwpsycho-tycznych. W tym rozdziale zwrócono uwagę na najnowsze rodzaje terapii oraz podjęto próbę porównania, jak zmienił się sposób leczenia pacjenta zarówno na drodze terapeutycznej, jak i farmakologicznej.

Słowa klucz: *borderline*, farmakoterapia, psychoterapia, zaburzenia osobowości

Abstract

Personality disorders are permanent patterns of non-functional behavior that departs from society expectations, resulting in anxiety that comes from behavior that is different from universally accepted cultural and social norms. Up to 9,1% of society suffers from personality

disorders. One of the most commonly diagnosed personality disorder is borderline personality disorders (BPD), which occurrence reaches between 0,7 to 2%, in particular women (70-75% of BPD cases). BPD diagnosis cause difficulties due to its similarities with bipolar disorders and its co-occurrence with depression and other mental disorders. For many years BPD were thought to be problematic when it comes to treatment. Latest researches prove, that *borderline* personality disorder can be indeed successfully treated with innovational therapies. Therapies, behavioural therapy and psychoanalytic psychotherapy in particular, focuses on central disorder aspect - lack of stability in many aspects of one's life and helps to overcome feeling of emptiness. Pharmacotherapy has supplementary role in treatment process. "Mood stabilizers" and small quantities of antipsychotic drugs are commonly used in BPD treatment. In this chapter new therapies are described, as well as latest changes in both therapies and pharmacological treatment.

Keywords: *borderline*, pharmacotherapy, psychotherapy, personality disorder

1. Wprowadzenie

Osobowość to utrzymujące się przez całe życie trwałe i stabilne cechy oraz postawy, obejmujące sposób myślenia, odczuwania i zachowania, odróżniający jednostkę od ogółu. Zaburzenia osobowości są to ukorzenione wzorce niefunkcjonalnego postępowania, powodują niepokój, wynikający z zachowania odmiennego od powszechnie panujących norm kulturalnych i społecznych. Zaburzenia osobowości stanowią grupę zaburzeń psychicznych, charakteryzujących się utrudnionym funkcjonowaniem w ważnych dla chorego sferach życia (tj. osobistej, społecznej, rodzinnej czy zawodowej). U cierpiących obserwuje się długotrwałe, nieelastyczne i nieprzystosowane utrwalone zachowania lub cechy, które wpływają na ich sposób myślenia, reakcje emocjonalne, stosunki międzyludzkie i panowanie nad impulsami ¹. Obecnie szacuje się, iż około 10-13% społeczeństwa spełnia w ciągu życia kryteria występowania zaburzeń osobowości ².

W przeciągu ostatniej dekady nastąpiły znaczne zmiany w psychiatrycznej nomenklaturze zaburzeń osobowości. Zgodnie z klasyfikacją ICD-11, zaburzenia osobowości podzielone są zgodnie ze stopniem intensywności (6D10.0 - łagodne, 6D10.1 - umiarkowane, 6D10.2 - ciężkie). W celu postawienia dokładniejszej diagnozy, stosowane są specyfikatory, opisujące zestawy cech najbardziej wyróżniających się i przyczyniających do rozwoju zaburzeń. Domeny obejmują: Negatywną afektywność (6D11.0), Oddziałość (6D11.1), Dysocjalność (6D11.2), Odhamowanie (6D11.3), Anankastę (6D11.4), Wzór graniczny (6D11.5). Wzór graniczny, czyli specyfikator wzorca *borderline*, jest stosowany dodatkowo, aby zwiększyć użyteczność klasyfikacji zaburzeń osobowości ³.

Do rozpoznania zaburzeń osobowości stosuje się również kryteria DSM-5. Do kluczowych kryteriów rozpoznawania zaburzeń osobowości należą kryteria A i B. Kryterium A związane jest z występowaniem nieprawidłowości w sferze osobistej, obejmującej tożsamość i zdolność do kierowania sobą oraz w sferze społecznej obejmującej empatię i bliskość. Aby zdiagnozować zaburzenie wymagane jest stwierdzenie przynajmniej umiarkowanego poziomu nieprawidłowości funkcjonowania osobowości (poziom 2), oceniane na 5-punktowej skali opisowej (od poziomu 0 do poziomu 4) - Skali Poziomu Funkcjonowania osobowości (ang. *Level of Personality Functioning Scale*). Kryterium B związane jest z występowaniem jednej lub kilku cech patologicznych wybranych spośród 25 cech-aspektów, zgrupowanych w 5 cech-domen. Każda z cech jest oceniana pod względem nasilenia za pomocą kwestionariusza – Inwentarza Osobowości PID-5. Pozostałe, stosowane w DSM-5 kryteria C-G, należą do kryteriów klinicznych wykluczających rozwój zaburzeń osobowości przez czynniki środowiskowo-kulturowe, farmakologiczno-medyczne czy w wyniku innych zaburzeń psychicznych. W DSM-5 wyróżnia się sześć typów zaburzeń osobowości, tj.: osobowość antyspołeczną, unikającą, z pogranicza, obsesyjno-kompulsywną, narcystyczną i ischizotypową. Oprócz wymienionych zaburzeń możliwe jest zdiagnozowanie tzw. zaburzenia osobowości określonego przez cechę. Ta kategoria zastępuje niezdefiniowane precyzyjnie zaburzenia, które były obecne w poprzednich edycjach DSM ^{4,5}. Zaburzenie osobowości typu *borderline* przez ostatnie 20 lat jest rozpoznawane z coraz większą częstotliwością, co sprawia, że przez wielu badaczy jest określane zaburzeniem naszych czasów ⁶.

2. Charakterystyka zaburzenia

Zaburzenie osobowości z pogranicza jest jednym z najczęściej diagnozowanych w Polsce zaburzeń osobowości. W populacji między 18 a 65 rokiem życia częstość występowania wynosi 7,35% i spotykane jest częściej wśród kobiet (około 10% populacji) niż mężczyzn (około 5%) ⁷.

Zaburzenie osobowości typu *borderline* (BPD – ang. *Borderline Personality Disorder*) charakteryzuje się występowaniem utrwalonego wzorca niestabilności, przyczyniającego się do znaczących trudności w zawieraniu relacji, postrzeganiu własnego Ja, oraz wyrażaniu emocji. Obserwuje się również zaburzenia własnej tożsamości, objawiające się jako znacząco wysokie lub niskie poczucie własnej wartości oraz niestabilny obraz własnej osoby ⁸. Cierpiący na zaburzenie osobowości typu *borderline* w sytuacjach stresowych ujawniają przejściowe myśli paranoidalne i trudności w regulowaniu emocji. Tworzone

przez nich relacje są niestabilne, wykazują tendencję do nagłej zmiany sposobu postrzegania osoby – od idealizacji po pozbawienie wartości⁹. Zaburzenie to charakteryzuje się również znaczną impulsywnością, której przejawem mogą być zachowania, takie jak nadużywanie substancji, objadanie się lub zachowania autodestrukcyjne, m.in. samookaleczanie⁸.

Następstwem typowych objawów są niskie wyniki na polu zawodowym lub szkolnym, trudności w zapamiętywaniu, brak trwałych relacji i związków, częstsze konflikty oraz znaczny spadek satysfakcji z życia¹⁰. Zaburzony obraz własnej osoby, a także mechanizm regulacji emocji oraz interakcji międzyludzkich przekłada się na nawet szesnastokrotnie zwiększone obciążenie pacjentów z BPD zarówno kosztami opieki zdrowotnej, jak i kosztami utraconej produktywności w stosunku do osób zdrowych¹¹.

3. Leczenie

Zaburzenie osobowości typu *borderline* przez długi czas były traktowane jako jedno z trudniejszych do leczenia, a nawet zaliczane do nieuleczalnych, z uwagi na znikome dane i wiedzę w ramach kompleksowej opieki psychiatrycznej tego zaburzenia^{10,11}. Diagnoza jest utrudniona z uwagi na niejednorodny fenotyp oraz podobieństwo i nakładanie się symptomów korelujących z innymi diagnozami psychiatrycznymi¹². Stanowiło to trudność zarówno dla członków rodziny pacjenta, jak i systemu opieki zdrowotnej. Jednak w ostatnich latach sytuacja zmieniła w związku ze znacznymi postępami w zrozumieniu i terapii tego zaburzenia, co prowadzi do szybszej diagnozy i lepszych wyników leczenia¹³.

Występowanie BPD wyrażne obciążenie, ze względu na występowanie somatycznych chorób współistniejących i śmiertelności oraz koszty leczenia. Badania ukazują zwiększone ryzyko wystąpienia: somatycznych następstw urazów, wirusowego zapalenia wątroby, zakażenia HIV, chorób endokrynologicznych, metabolicznych, układu krążenia i oddechowego oraz otyłości. Skraca się również szacowana długość życia nawet od 5 do 9,3 lat życia (w zależności od wieku i płci). Zwiększona śmiertelność osób z BPD wynika, w większości sytuacji, ze słabego stanu zdrowia fizycznego i nieprawidłowych zachowań zdrowotnych, skojarzonych z zaburzeniem osobowości typu *borderline*, a w mniejszym stopniu z samobójstw^{10,12}.

Zgodnie z wytycznymi klinicznymi dotyczącymi BPD wydanymi przez Amerykańskie Towarzystwo Psychiatryczne (ang. *American Psychiatric Association*; APA) oraz Światową Federację Towarzystw Psychiatrii Biologicznej (ang.

The World Federation of Societies of Biological Psychiatry; WFSBP), to psycho-terapia jest określona jako leczenie pierwszego rzutu^{14,15}. Leczenie farmakologiczne stosowane jest jako wspomagające, a hospitalizacja wykorzystywana jest jedynie w stanach bezpośredniego zagrożenia życia¹⁶.

3.1. Psychoterapia

W ostatnich latach powstały nowe schematy postępowania, a niektóre z dawniej używanych zostały zaktualizowane, aby jak najlepiej pomóc osobom z BPD. Można wyróżnić cztery, które są zalecane w przypadku zaburzeń osobowości typu z pogranicza. Są to: dialektyczna terapia behawioralna (DBT, ang. *Dialectical Behavioural Therapy*), terapia schematów (ST, ang. *Schema Therapy*), terapia oparta na mentalizacji (MBT, ang. *Mentalisation-based Therapy*) i psychoterapia skupiona na przeniesieniu (TFD, ang. *Transference-focused Psychotherapy*), nazywane „Wielką Czwórką” (ang. „*The Big-4*”). Określane są również terapiami specjalistycznymi w leczeniu tego zaburzenia^{17,18}. Wszystkie terapie w leczeniu BPD łączy długofalowy i intensywny charakter leczenia, obejmujący od 1 do 3 lat oraz określona struktura. Jest to spowodowane przewlekłym charakterem tego zaburzenia, jednak nie oznacza, że efekty nie mogą zostać zaobserwowane już po krótkim czasie. Terapie skupiają się na wyraźnych obszarach (np. zachowaniach problematycznych, wzorcach relacji międzyludzkich) i posiadają przejrzystą hierarchię celów, które stopniowo są osiągane w trakcie leczenia. Ważną rolę odgrywa stworzenie silnej relacji terapeutycznej z pacjentem, opartej na jasnych zasadach i oczekiwaniach, która umożliwi przyjęcie aktywnej postawy, pozwalającej na wsparcie i zrozumienie emocji leczonego. Kluczowe jest angażowanie pacjenta od początku terapii, zachęcanie go do zadawania pytań i świadomego udziału w leczeniu¹⁶.

Dialektyczna terapia behawioralna to model terapii łączący klasyczną terapię poznawczo-behawioralną (CBT, ang. *Cognitive behavioral therapy*) z praktyką opartą na akceptacji i humanistycznym podejściu, stawiające w centrum zainteresowania „człowieczeństwo” jednostki i jego egzystencji. W DBT zaburzenie osobowości typu *borderline* jest postrzegane jako wszechogarniająca dysregulacja emocjonalna, opisywana wysoką wrażliwością emocjonalną i niedoborem zdolności regulacji. Mechanizm wykształca się w odpowiedzi na środowisko, które ignoruje, tłumi lub neguje emocje, co skutkuje dodatkowym pogłębieniem stanu i uniemożliwia wytwarzanie umiejętności behawioralnych i poznawczych potrzebnych do regulacji. Terapia skupia się na rozwijaniu zdolności i umiejętności tolerancji stresu, regulacji emocji i zachowań

interpersonalnych, wzmacnianiu motywacji do zmiany i konstruowaniu środowiska sprzyjającego utrzymaniu stałego rozwoju oraz postępu w leczeniu^{19,20}.

Terapia oparta na mentalizacji to złożony program psychodynamicznej terapii opartej na procesie mentalizacji. Mentalizacja to w większości nieświadomy, wyobrażeniowy proces psychiczny. Polega on na rozpoznawaniu i rozumieniu zachowań własnych oraz innych osób, jako wynikających z określonych stanów umysłowych. Pomaga to zrozumieć sens myśli, przekonań i uczuć oraz powiązać je z zachowaniami. Terapia ma na celu poprawę zdolności mentalizacji i koncentrację na trudnościach w sytuacji życiowej pacjenta, w celu zrozumienia siebie i swoich emocji. MBT opiera się na współpracy i ustrukturyzowanym podejściu pracy, poprzez delikatną ekspansję mentalizowania i pomoc pacjentowi w rozpoznawaniu stanów psychicznych, których wcześniej nie był świadomy^{19,21,22}.

W terapii schematów leczenie skupione jest na schematach, czyli trwałych wzorcach zachowań, przekonań, emocji, które wytwarzają się we wczesnym okresie życia i prezentujących się jako nieadaptacyjnych style radzenia sobie w życiu dorosłym. Jest to integracyjna forma psychoterapii, obejmująca CBT, teorię przywiązania, teorie Gestalt i podejście psychodynamiczne. ST opiera się na dwóch sposobach formułowania problemów pacjenta i świadomości potrzeby procesu zmiany. Pierwszy model koncepcyjny skupia się na wczesnych schematach nie przystosowawczych, czyli wszechobecnym i destrukcyjnym wzorcach myślenia, zachowań i poznania wytworzonych w dzieciństwie, ale rozwijanych przez całe życie. Drugi model skupia się na bieżących stanach, które zostały wytworzone wskutek szybkich zmian emocjonalnych z jednoczesną aktywacją wielu schematów jednocześnie^{19,23}.

Psychoterapia skupiona na przeniesieniu jest psychoterapią psychodynamiczną. W przypadku tej terapii objawy BPD są postrzegane jako brak integracji tożsamościowej, związany z brakiem spójnego obrazu w indywidualnych doświadczeniach oraz zrozumieniu siebie i innych. Brak integracji przekłada się na negatywny stosunek do siebie i innych oraz powiązane z tym afekty oddzielone od pozytywnej reprezentacji, prowadzące do niestabilnych zachowań, emocji i relacji. Terapia ma na celu ułatwienie lepszej kontroli i regulacji zachowań, zwiększenie refleksji oraz proces integracji tożsamościowej, która będzie przekładała się na umiejętność prowadzenia zdrowego życia, charakteryzującego się satysfakcją w różnych dziedzinach^{19,24}.

3.2. Farmakoterapia

Farmakoterapia uznawana jest za leczenie wspomagające. Wytyczne przedstawione przez National Institute for Health Care Excellence (NICE) w Wielkiej Brytanii oraz Australijską Narodową Radę ds. Zdrowia i Badań Medycznych (NHMRC) mówią, iż obecne dowody nie przemawiają za stosowaniem farmakoterapii, jako formy leczenia pierwszego rzutu, za wyjątkiem pacjentów, u których występuje współistniejące zaburzenie psychiczne. Pomimo tego, że żadne z leków psychotropowych nie zostały oficjalnie zatwierdzone w leczeniu BPD, pacjenci rutynowo otrzymują leki przeciwdepresyjne, przeciwpsychotyczne, oraz stabilizatory nastroju. Powszechna jest również polifarmacja – ponad 80% pacjentów cierpiących na BPD, zarówno w USA i niektórych państwach Europy przyjmuje trzy lub więcej leków. Prawdopodobnie, zaistniała sytuacja wynika przede wszystkim z ograniczonego dostępu do profesjonalnej terapii psychologicznej, ale również występowania różnych chorób współistniejących²⁵. Leczenie farmakologiczne jest zalecane do użytkowania jedynie w okresie kryzysu leczenia zaburzenia i powinno być stosowane nie dłużej niż przez 12 tygodni¹⁶.

4. Badania kliniczne

4.1. Psychoterapia

Badania nad różnymi rodzajami leczenia zaburzenia osobowości typu *borderline* dopiero w ostatnich latach uległy znacznej intensyfikacji, co pozwala na porównywanie metod leczenia i wybranie najlepszego sposobu leczenia dla pacjenta.

W metaanalizie z 2018 roku, zajmującej się długoterminowym klinicznym i funkcjonalnym przebiegiem zaburzenia osobowości typu *borderline*, przeanalizowano aktualne wyniki prospektywnych badań nad długoterminowym przebiegiem BPD w wieku dorosłym. Konkluzje są bardzo optymistyczne, gdyż szacuje się, że od 50 do 70% pacjentów może osiągnąć remisję objawową między 5 a 15 rokiem obserwacji. Na krótszy czas remisji wpływa wcześniejsze rozpoznanie. U płci żeńskiej obserwowano mniejszą poprawę funkcjonowania, pomimo braku istotnych różnic między płciami w stosunku do zmian w diagnozie BPD w długim okresie. Analiza uwidacznia ważną kwestię, jaką jest wczesna diagnoza, która pozwala wdrożyć skuteczną terapię już w młodości, co pozwoli na zmniejszenie krytycznych skutków choroby w następnych

etapach życia. Interesującym odkryciem jest, że terapia grupowa może być skuteczniejsza niż terapia indywidualna lub mieszana w zmniejszeniu nasilenia objawów BPD. Również w tej samej kwestii opieka ambulatoryjna jest uznawana za skuteczniejszą niż opieka stacjonarna, oprócz aspektu poprawy funkcjonowania psychospołecznego, w przypadku których połączenie tych dwóch form przyniosło największą skuteczność ²⁶.

W metaanalizach z 2020 roku porównano skuteczność „Wielkiej Czwórki”. Wszystkie terapie przyczyniły się do ogólnego zmniejszenia objawów BPD, ze skutecznością wahającą się od średniej po dużą. Zauważono największą poprawę w stopniu generalnego nasilenia i niestabilności emocjonalnej w stosunku do standardowego leczenia (TAU, ang. *treatment-as-usual*). Ocena efektów po roku stosowania wykazała, że ST i ograniczona DBT wywołały największe zmiany w porównaniu ze skutecznością TAU. Wyżej wymienione terapie, wraz z MBT, są najskuteczniejsze w leczeniu BPD w porównaniu ze średnią skutecznością uwzględnionych innych 16 rodzajów terapii. Zaobserwowano istotne korzyści, wynikające ze stosowania DBT, w przypadku głównych wyników nasilenia BPD, samookaleczeń i funkcjonowania psychospołecznego oraz korzystny wpływ MBT w ograniczaniu samookaleczeń, samobójstw i depresji. Wykazano, że rodzaj przeprowadzonej terapii, jej miejsce, poziom edukacji, rodzaj oceny badania, wykluczenie uzależnień od substancji, podejście farmakoterapeutyczne, miejsce przeprowadzania badania oraz proporcje ilości osób badanych, nie wpływają na skuteczność terapii. Analiza danych potwierdziła również, że wraz z wiekiem spada skuteczność terapii w leczeniu BPD, co jest zgodne z teorią, że osobowość wraz z wiekiem staje się mniej podatna na zmiany ^{19,27}.

Przeprowadzono wiele badań oceniających skuteczność poszczególnych terapii, skupiających się na różnych aspektach procesu leczenia. Do dwóch najintensywniej badanych metod leczenia należą DBT i MBT. W obu przypadkach stwierdzono wpływ na kilka domen objawów w BPD ¹³. Pacjenci pomimo różnych modeli psychoterapii wykazywali porównywalną poprawę w kwestii nasilenia objawów, dysocjacji i relacji międzyludzkich. Jednakże zastosowanie u pacjentów DBT było związane z szybszą redukcją częstotliwości okaleczeń oraz rozregulowania emocjonalnego, w porównaniu do MBT ^{28,29}. Inne badania również wykazywały, że wykorzystanie umiejętności i przeświadczenie o własnej skuteczności, wypracowane w czasie terapii DBT, przekładały się na rzadsze występowanie samookaleczeń, nawet jeśli u pacjenta następowało nasilenie objawów osobowości z pogranicza ^{20, 30}. W nierandomizowanym kontrolowanym badaniu sprawdzano również czy neuronalne korelaty - układ

limbiczny i kora przedczołowa- leżące u podstawy nieprawidłowej regulacji emocji w zaburzeniu, ulegają poprawie po zastosowaniu DBT. Pacjenci wykazywali zmiany w rejonach związanych ze strategią regulacji emocji, w obszarze zakrętu nadbrzeżnego i przedniej części kory obręczy – obszar odpowiadający za odwracanie uwagi i automatyczną kontrolę uwagi ³¹.

W przypadku terapii MBT, uczestnicy badań doświadczali zmian, w postaci mniejszej dysregulacji emocji, budowania lepszych relacji i większej kontroli impulsów ³². Pacjenci po terapii MBT dodatkowo zgłaszali mniejsze nasilenie objawowego stresu i poprawę zdolności w zakresie autorefleksji, a także bardziej stabilny obraz siebie i zwiększony szacunek względem siebie. Badanie to dokumentuje skuteczność dziennego leczenia szpitalnego MBT w ciężkiej grupie pacjentów z BPD ³³.

Psychoterapia skoncentrowana na przeniesieniu i terapia skoncentrowana na schemacie są również uznanymi metodami leczenia, ale zostały zbadane mniej intensywnie. W badaniu porównującym terapię schematów z leczeniem TAU nie zaobserwowano wyższej skuteczności, pomimo wysokiego zadowolenia pacjentów z tego rodzaju terapii. Wynik prawdopodobnie był spowodowany zbyt krótkim czasem terapii, gdyż w przypadku dłuższej terapii grupowej zaobserwowano korzystniejsze efekty. Warto jednak zauważyć niekontrolowany charakter innych ³⁴. W innym badaniu wykazano, że indywidualna ST była skuteczna w zmniejszaniu ciężkości BPD w porównaniu z TAU, czego nie zaobserwowano w przypadku terapii grupowej ³⁵.

4.2. Farmakoterapia

Leki przeciwdepresyjne należą do najczęściej przepisywanej grupy leków pacjentom z zaburzeniem osobowości typu *borderline* (70-80%). Chociaż zaburzenia depresyjne mogą współtowarzyszyć osobom z BPD, ta grupa leków przepisywana jest również w przypadku pacjentów, u których te zaburzenia nie występują, pomimo braku wystarczających dowodów o ich skuteczności w przypadku BPD ³⁶.

Wśród substancji należących do grupy selektywne inhibitory wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI, ang. *selective serotonin reuptake inhibitors*) najwięcej badań zostało przeprowadzonych w kierunku skuteczności fluoksetyny w leczeniu BPD. Przeprowadzono 5 randomizowanych kontrolowanych badań klinicznych (RTC, ang. *Randomized Controlled Trial*) z udziałem fluoksetyny. Wśród trzech badań porównujących fluoksetynę z placebo, tylko jedno badanie wykazało skuteczność fluoksetyny w zmniejszaniu gniewu, drażliwości

i impulsywności. Zestawienie fluoksetyny z dialektyczną terapią behawioralną (DBT) nie przyniosła dodatkowych korzyści w porównaniu do zastosowania samej terapii ³⁷. Jednak zastosowanie terapii interpersonalnej do BPD (IPT-BPD, ang. *Interpersonal Psychotherapy for Borderline Personality Disorder*) połączonej z leczeniem fluoksetyną wykazało znaczącą skuteczność w porównaniu do samej farmakoterapii. W odpowiedzi na terapię skojarzoną u pacjentów widoczne było znaczące zmniejszenie lęku i impulsywności, oraz zwiększenie jakości życia, która utrzymywała się nawet dwa lata po zakończeniu psychoterapii ³⁸. Przeprowadzone zostało jedno RCT dotyczące skuteczności fluoksetaminy, które wykazało korzystny wpływ poprzez zmniejszenie pojawiających się zmian nastroju, nie wykazano jednak wpływu na impulsywność i agresję ³⁹. Leki przeciwdepresyjne przyczyniają się do zmniejszenia depresyjnego nastroju, impulsywności, napadów gniewu czy lęku. Nie ma natomiast wystarczającej liczby badań przemawiających za poparciem lub rezygnacją ze stosowania leków przeciwdepresyjnych w leczeniu BPD ^{37,40}.

Do leków najczęściej stosowanych w leczeniu zaburzeń osobowości typu *borderline* należy olanzapina, asenapina oraz kwetapina. Według danych 70-79% hospitalizowanych pacjentów z BPD przyjmuje leki przeciwpsychotyczne, w przypadku leczenia ambulatoryjnego jest to od 35% do nawet 60% ³⁶.

Jak dotąd najwięcej badań dotyczyło oceny skuteczności olanzapiny w leczeniu BPD. Ogólny wniosek płynący z przeprowadzonych badań świadczy o pozytywnym wpływie olanzapiny na leczenie, zmniejszenie lęku oraz ograniczenie zachowań impulsywno-agresywnych u pacjentów. Stosowanie olanzapiny przy jednoczesnej dialektycznej terapii behawioralnej, w przeciwieństwie do terapii skojarzonej z fluoksetyną, wykazuje znaczącą skuteczność w leczeniu stanów depresyjnych, lęku i zachowań kompulsywno-agresywnych w porównaniu z zastosowaniem samej terapii ³⁸.

W jednym z badań została oceniona skuteczność olanzapiny w porównaniu do fluoksetyny oraz kombinacja obu leków. Trwające 8 tygodni badanie wykazało, że leczenie olanzapiną oraz kombinacją olanzapiny i fluoksetyny przyczynia się do znacznego obniżenia objawów depresyjnych w porównaniu do pacjentów przyjmujących wyłącznie fluoksetynę ⁴¹.

Porównano również skuteczność olanzapiny z asenapiną. Obecnie zostało przeprowadzone tylko jedno badanie świadczące o skuteczności asenapiny, które jasno wykazało, że przyczynia się ona do obniżenia niestabilności afektywnej oraz impulsywności. Badanie porównawcze wykazało, że asenapina w większym stopniu przyczynia się do obniżenia niestabilności afektywnej, z kolei olanzapina w porównaniu do asenapiny w większym stopniu pozwala

na ograniczenie myśli paranoidalnych. W jednym z badań stwierdzono, że asepina zmniejsza zarówno agresję, jaki i impulsywność wśród badanych ^{42,43}.

Przeprowadzonych zostało również kilka badań oceniających skuteczność kwetiapiny w leczeniu BPD. Na ten moment wykazują one pozytywny wpływ kwetiapiny na funkcjonowanie społeczne, regulację gniewu i agresji. Jednak brak jest wystarczającej ilości dowodów przemawiających za istotnym działaniem kwetiapiny w leczeniu BPD ^{37,41}.

Stosowany w leczeniu schizofrenii i choroby afektywnej dwubiegunowej aripiprazol został przebadany również w kierunku leczenia pacjentów z zaburzeniem osobowości typu *borderline*. Przeprowadzone podwójnie ślepe, kontrolowane badanie wykazało, że leczenie aripiprazolem przyczyniło się do znacznej poprawy, powodując obniżenie stresu, lęku, myśli paranoicznych oraz do zmniejszenia objawów obsesyjno-kompulsywnych ⁴⁴. Zastosowanie aripiprazolu u pacjentów leczonych sertralina, lekiem przeciwdepresyjnym z grupy SSRI, niereagujących na leczenie wykazało znaczącą poprawę ogólnego stanu pacjentów. Lek został uznany za bezpieczny i wspierający dotychczasowo bezskuteczne leczenie. Jednak tak jak w przypadku innych leków brak wystarczających danych dotyczących skuteczności leku w leczeniu zaburzeń osobowości typu *borderline* ⁴⁵.

Tak jak w przypadku leków przeciwdepresyjnych, brak obecnie wystarczających dowodów świadczących o skuteczności leków przeciwpsychotycznych w leczeniu BPD. Obecnie najbardziej przebadanym lekiem, wykazującym skuteczność w leczeniu BPD jest olanzapina. Brak jednak badań dotyczących z udziałem aripiprazolu i kwetiapiny potwierdzających ich skuteczność.

Na początku 2022 roku przeprowadzono badanie dotyczące skuteczności działania brexpiprazolu w leczeniu BPD. Brexpiprazol to lek przeciwpsychotyczny, częściowy antagonist receptoru dopaminy D2, stosowany w leczeniu schizofrenii oraz dużych zaburzeń depresyjnych (MDD, ang. *Major Depressive Disorder*). Wynik badania wskazuje na to, że lek był dobrze tolerowany i że w pewien sposób może przyczyniać się do złagodzenia objawów BPD. Ponieważ efekty leczenia zaczęły być widoczne dopiero po koniec trwającego 12 tygodni leczenia, a odpowiedź placebo była bardzo silna i widoczna, konieczne jest przeprowadzanie kolejnych, dłuższych badań, które mogą poświadczyć o skuteczności brexpiprazolu ⁴⁶.

5. Dyskusja

Przeprowadzone dotychczas badania zgodnie stwierdzają, że zastosowanie terapii specjalistycznych przynosi znacząco wyższe efekty niż przy leczeniu klasycznym^{19,26}. Nie ma jednoznacznych, wysokiej jakości dowodów, popierających jedną ze specjalistycznych terapii. Każda z terapii w inny sposób podchodzi do leczenia i skupia się na odmiennych kwestiach, a analizy nie wykazują różnic w szacunkowych efektach. Problemem w jednoznacznym porównaniu jest niedostateczna ilość badań RCT z większymi grupami pacjentów. Potrzebne są również dalsze badania w kwestiach skutków leczenia w pewnych grupach wiekowych – zwłaszcza młodzieży i osób starszych, a także mężczyzn, którzy są niedoreprezentowani w badaniach na temat tego zaburzenia. W przypadku specjalistycznych terapii, jak i leczenia farmakologicznego, konieczne jest przeprowadzenie większej ilości badań replikacyjnych z wyższym rygorem metodologicznym i perspektywą długoterminową¹³.

Żadna z terapii opartych na dowodach nie wykazuje wyższości nad innymi, jednak poszczególne z nich wpływają na polepszenie innych objawów związanych z tym zaburzeniem osobowości. Badania potwierdzają kluczową rolę terapii w leczeniu, a wykorzystywane leki wpływają pozytywnie i spełniają jedynie rolę wspomagającą. Obiecujące jest wykorzystanie brexiprazolu i aripiprazolu, jednak wymaga to większej ilości badań na większą skalę.

Zaburzenie osobowości typu *borderline* stanowi wyzwanie w diagnostyce i leczeniu, gdyż obecnie nie ma zintegrowanego modelu etiologicznego rozwoju BDP, popartego empirycznie. Nieznane są predyktory genetyczne i neurobiologiczne przyczyn tego zaburzenia, powiązane z niekorzystnymi doświadczeniami z dzieciństwa, które sugerowałyby przyczyny nadwrażliwości emocjonalnej¹³. Korzystne perspektywy leczenia tego zaburzenia nakreślają jednak badania opublikowane w 2020 roku, skupiających się na nieprawidłowościach strukturalnych mózgu w zaburzeniach osobowości typu *borderline*. Badani zostali poddani rezonansowi magnetycznemu (MRI, ang. *Magnetic Resonance Imaging*), co pozwoliło na odkrycie, że biomarkery obrazowania strukturalnego przed terapią są w stanie przewidywać odpowiedź kliniczną po pomocy psychoterapeutycznej. Odkrycie wskazuje na określone obszary mózgu, które prawdopodobnie utrudniają poprawę kliniczną po terapii. Spowodowane jest to niższą objętością istoty szarej (GMV, ang. *Gray Matter Volume*) w dolnych i przyśrodkowych skupiskach przedczołowych, a także zmniejszoną grubością kory w okolicy ogonowej, środkowej, przedcentralnej i pośrodkowej czołowej. Ich funkcje odgrywają kluczową rolę w regulacji impulsywności

i hamowaniu odpowiedzi, dlatego właśnie te obszary utrudniają poprawę stanu zdrowia. Wysznięte z badania wnioski pokazują, że proste wskaźniki obrazowe wywodzące się ze standardowej procedury RM przed interwencją terapeutyczną mogą stanowić potencjalną prognozę skuteczności odpowiedzi klinicznej. Stanowi to bardzo obiecującą wartość predykcyjną, jednak wymaga dalszych badań w celu jednoznacznego potwierdzenia ⁴⁷.

Bibliografia

1. Puri BK, Treasaden IH. Psychiatria. (Rybakowski J, Rybakowski F, eds.). Edra Urban & Partner; 2021.
2. Penders KAP, Peeters IGP, Metsemakers JFM, van Alphen SPJ. Personality Disorders in Older Adults: a Review of Epidemiology, Assessment, and Treatment. *Current Psychiatry Reports*. 2020;22(3):14. doi:10.1007/s11920-020-1133-x
3. ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics. Accessed March 12, 2022. <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>
4. Oldham JM. DSM models of personality disorders. *Current Opinion in Psychology*. 2018;21:86-88. doi:10.1016/j.copsyc.2017.09.010
5. Rowiński T, Kowalska-Dąbrowska M, Strus W, et al. Measurement of pathological personality traits according to Section III of the DSM-5: A Polish adaptation of PID-5. Part I – Theoretical foundations. *Psychiatria Polska*. 2019;53(1):7-22. doi:10.12740/PP/OnlineFirst/86477
6. Ewa Talarowska M, Kobza R. Early maladaptive schemas in borderline personality disorder. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia*. 2021;16(1-2):24-31. doi:10.5114/nan.2021.107633
7. Gawda B, Czubak K. Prevalence of Personality Disorders in a General Population Among Men and Women. *Psychological Reports*. 2017;120(3):503-519. doi:10.1177/0033294117692807
8. Kulacaoglu F, Kose S. Borderline Personality Disorder (BPD): In the Midst of Vulnerability, Chaos, and Awe. *Brain Sciences*. 2018;8(11):201. doi:10.3390/brainsci8110201
9. Janas-Kozik M, Wolańczyk T. Psychiatria Dzieci i Młodzieży . Vol Tom 1. PZWL; 2021.

10. Stoffers-Winterling J, Krause-Utz A, Lieb K, Bohus M. Was wissen wir heute über die Borderline-Persönlichkeitsstörung? Aktuelles zu Ätiologie, Diagnostik und Therapie. *Nervenarzt*. 2021;92(7):643-652. doi:10.1007/s00115-021-01140-x
11. Hastrup LH, Jennum P, Ibsen R, Kjellberg J, Simonsen E. Societal costs of Borderline Personality Disorders: a matched-controlled nationwide study of patients and spouses. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2019;140(5):458-467. doi:10.1111/acps.13094
12. Jacobi F, Grafiadeli R, Volkmann H, Schneider I. Krankheitslast der Borderline-Persönlichkeitsstörung: Krankheitskosten, somatische Komorbidität und Mortalität. *Nervenarzt*. 2021;92(7):660-669. doi:10.1007/s00115-021-01139-4
13. Bohus M, Stoffers-Winterling J, Sharp C, Krause-Utz A, Schmahl C, Lieb K. Borderline personality disorder. *The Lancet*. 2021;398(10310):1528-1540. doi:10.1016/S0140-6736(21)00476-1
14. 2018 surveillance of personality disorders (NICE guidelines CG77 and CG78) Surveillance report Contents Contents. Published online 2018. Accessed April 28, 2022. www.nice.org.uk
15. Stoffers-Winterling JM, Völlm BA, Rücker G, Timmer A, Huband N, Lieb K. Psychological therapies for people with borderline personality disorder. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012;2020(9). doi:10.1002/14651858.CD005652.pub2
16. Popiel A. Borderline personality disorder – current psychotherapy guidelines. *Psychiatria i Psychologia Kliniczna*. 2021;21(1):36-44. doi:10.15557/PiPK.2021.0004
17. Rameckers SA, Verhoef REJ, Grasman RPPP, et al. Effectiveness of Psychological Treatments for Borderline Personality Disorder and Predictors of Treatment Outcomes: A Multivariate Multilevel Meta-Analysis of Data from All Design Types. *Journal of Clinical Medicine*. 2021;10(23):5622. doi:10.3390/jcm10235622
18. Cristea IA, Gentili C, Cotet CD, Palomba D, Barbui C, Cuijpers P. Efficacy of Psychotherapies for Borderline Personality Disorder. *JAMA Psychiatry*. 2017;74(4):319. doi:10.1001/jamapsychiatry.2016.4287

19. Stone MH. Borderline Personality Disorder: Clinical Guidelines for Treatment. *Psychodynamic Psychiatry*. 2019;47(1):5-26. doi:10.1521/pdps.2019.47.1.5
20. Barnicot K, Gonzalez R, McCabe R, Priebe S. Skills use and common treatment processes in dialectical behaviour therapy for borderline personality disorder. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*. 2016;52:147-156. doi:10.1016/j.jbtep.2016.04.006
21. Daubney M, Bateman A. Mentalization-based therapy (MBT): an overview. *Australasian Psychiatry*. 2015;23(2):132-135. doi:10.1177/1039856214566830
22. Jańczak M. (PDF) Mentalizacja w praktyce klinicznej - perspektywa psychodynamiczna. Accessed March 20, 2022. https://www.researchgate.net/publication/330015945_Mentalizacja_w_praktyce_klinicznej_-_perspektywa_psychodynamiczna
23. Tan YM, Lee CW, Averbek LE, et al. Schema therapy for borderline personality disorder: A qualitative study of patients' perceptions. *PLOS ONE*. 2018;13(11):e0206039. doi:10.1371/journal.pone.0206039
24. Yeomans FE, Levy KN, Caligor E. Transference-focused psychotherapy. *Psychotherapy*. 2013;50(3):449-453. doi:10.1037/a0033417
25. Pascual JC, Martín-Blanco A, Soler J. Twenty-Year Trends in the Psychopharmacological Treatment of Outpatients with Borderline Personality Disorder: A Cross-Sectional Naturalistic Study in Spain. *CNS Drugs*. 2021;35(9):1023-1032. doi:10.1007/s40263-021-00852-7
26. Álvarez-Tomás I, Ruiz J, Guilera G, Bados A. Long-term clinical and functional course of borderline personality disorder: A meta-analysis of prospective studies. *European Psychiatry*. 2019;56:75-83. doi:10.1016/j.eurpsy.2018.10.010
27. Storebø OJ, Stoffers-Winterling JM, Völlm BA, et al. Psychological therapies for people with borderline personality disorder. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020;2020(11). doi:10.1002/14651858.CD012955.pub2

28. Barnicot K, Crawford M. Dialectical behaviour therapy v. mentalisation-based therapy for borderline personality disorder. *Psychological Medicine*. 2019;49(12):2060-2068. doi:10.1017/S0033291718002878
29. Barnicot K, Redknap C, Coath F, Hommel J, Couldrey L, Crawford M. Patient experiences of therapy for borderline personality disorder: Commonalities and differences between dialectical behaviour therapy and mentalization-based therapy and relation to outcomes. *Psychology and Psychotherapy: Theory, Research and Practice*. 2022;95(1):212-233. doi:10.1111/papt.12362
30. Chen S, Cheng Y, Zhao W, Zhang Y. Effects of dialectical behaviour therapy on reducing self-harming behaviours and negative emotions in patients with borderline personality disorder: A meta-analysis. *Journal of Psychiatric and Mental Health Nursing*. 2021;28(6):1128-1139. doi:10.1111/jpm.12797
31. Winter D, Niedtfeld I, Schmitt R, Bohus M, Schmahl C, Herpertz SC. Neural correlates of distraction in borderline personality disorder before and after dialectical behavior therapy. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 2017;267(1):51-62. doi:10.1007/s00406-016-0689-2
32. Gardner KJ, Wright KM, Elliott A, Graham S, Fonagy P. The weirdness of having a bunch of other minds like yours in the room: The lived experiences of mentalization-based therapy for borderline personality disorder. *Psychology and Psychotherapy: Theory, Research and Practice*. 2020;93(3):572-586. doi:10.1111/papt.12243
33. Bales DL, Timman R, Andrea H, Busschbach JJ v., Verheul R, Kamphuis JH. Effectiveness of Day Hospital Mentalization-Based Treatment for Patients with Severe Borderline Personality Disorder: A Matched Control Study. *Clinical Psychology & Psychotherapy*. 2015;22(5):409-417. doi:10.1002/cpp.1914
34. Hilden HM, Rosenström T, Karila I, et al. Effectiveness of brief schema group therapy for borderline personality disorder symptoms: a randomized pilot study. *Nordic Journal of Psychiatry*. 2021;75(3):176-185. doi:10.1080/08039488.2020.1826050

35. Arntz A, Jacob GA, Lee CW, et al. Effectiveness of Predominantly Group Schema Therapy and Combined Individual and Group Schema Therapy for Borderline Personality Disorder. *JAMA Psychiatry*. 2022;79(4):287. doi:10.1001/jamapsychiatry.2022.0010
36. Stoffers-Winterling J, Storebø OJ, Lieb K. Pharmacotherapy for Borderline Personality Disorder: an Update of Published, Unpublished and Ongoing Studies. *Current Psychiatry Reports*. 2020;22(8):37. doi:10.1007/s11920-020-01164-1
37. Bozzatello P, Rocca P, de Rosa ML, Bellino S. Current and emerging medications for borderline personality disorder: is pharmacotherapy alone enough? *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. 2020;21(1):47-61. doi:10.1080/14656566.2019.1686482
38. Bellino S, Rinaldi C, Bogetto F. Adaptation of Interpersonal Psychotherapy to Borderline Personality Disorder: A Comparison of Combined Therapy and Single Pharmacotherapy. *The Canadian Journal of Psychiatry*. 2010;55(2):74-81. doi:10.1177/070674371005500203
39. Rinne T, van den Brink W, Wouters L, van Dyck R. SSRI Treatment of Borderline Personality Disorder: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial for Female Patients With Borderline Personality Disorder. *American Journal of Psychiatry*. 2002;159(12):2048-2054. doi:10.1176/appi.ajp.159.12.2048
40. Timäus C, Meiser M, Bandelow B, et al. Pharmacotherapy of borderline personality disorder: what has changed over two decades? A retrospective evaluation of clinical practice. *BMC Psychiatry*. 2019;19(1):393. doi:10.1186/s12888-019-2377-z
41. Gartlehner G, Crotty K, Kennedy S, et al. Pharmacological Treatments for Borderline Personality Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. *CNS Drugs*. 2021;35(10):1053-1067. doi:10.1007/s40263-021-00855-4
42. Bozzatello P, Rocca P, Uscinska M, Bellino S. Efficacy and Tolerability of Asenapine Compared with Olanzapine in Borderline Personality Disorder: An Open-Label Randomized Controlled Trial. *CNS Drugs*. 2017;31(9):809-819. doi:10.1007/s40263-017-0458-4

43. Musselman M, Faden J, Citrome L. Asenapine: an atypical antipsychotic with atypical formulations. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*. 2021;11:204512532110352. doi:10.1177/20451253211035269
44. Nickel MK, Muehlbacher M, Nickel C, et al. Aripiprazole in the Treatment of Patients With Borderline Personality Disorder: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *American Journal of Psychiatry*. 2006;163(5):833-838. doi:10.1176/ajp.2006.163.5.833
45. Bellino S, Paradiso E, Bogetto F. Efficacy and tolerability of aripiprazole augmentation in sertraline-resistant patients with borderline personality disorder. *Psychiatry Research*. 2008;161(2):206-212. doi:10.1016/j.psychres.2007.07.006
46. Grant JE, Valle S, Chesivoir E, Ehsan D, Chamberlain SR. A double-blind placebo-controlled study of brexpiprazole for the treatment of borderline personality disorder. *The British Journal of Psychiatry*. 2022;220(2):58-63. doi:10.1192/bjp.2021.159
47. Sampedro F, Farrés CC i, Soler J, et al. Structural brain abnormalities in borderline personality disorder correlate with clinical severity and predict psychotherapy response. *Brain Imaging and Behavior*. 2021;15(5):2502-2512. doi:10.1007/s11682-021-00451-6

KETAMINA ORAZ JEJ POCHODNE W TERAPII DEPRESJI OPORNEJ NA LECZENIE

MARTYNA GIAŁBAS¹, KAROL KRYSZEK², DARIA CHŁOSTA³,
KAROLINA CECERKO³, HONORATA BUNIEWSKA³, STANISŁAW ANCZYK⁴

1. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Biofizyki im. Prof. Zbigniewa Religi w Zabrze, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
2. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Farmakologii w Zabrze, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach,
3. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Psychiatrii, Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny
4. Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Klinice Dermatologii Wydziału Nauk Medycznych w Katowicach, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Abstrakt

Zaburzenia depresyjne stanowią rosnący problem w ogólnoświatowej populacji. Pomimo stosowania standardowego leczenia, u części chorych nie uzyskuje się poprawy klinicznej. Stan ten, określany jako depresja oporna na leczenie, jest wyzwaniem zarówno dla lekarzy, jak i dla pacjentów. Z tego względu, w niniejszej pracy dokonano przeglądu dostępnych wiadomości dotyczących jednej z metod potencjalizacji leczenia TRD (ang. *Treatment Resistant Depression*), poprzez zastosowanie ketaminy oraz jej pochodnych, ze szczególnym uwzględnieniem roli enancjomera (S)-ketaminy (esketaminy) w podaniu donosowym. Wyniki przytoczonych badań jednoznacznie wskazują, że ketamina oraz jej pochodne, wykazuje działanie przeciwdepresyjne, a także mają zastosowanie w redukowaniu tendencji i myśli samobójczych. Nieustannie trwają badania mające określić skuteczność oraz bezpieczeństwo stosowania ketaminy i jej pochodnych, co świadczy o jej istotnym znaczeniu w terapii depresji opornej na leczenie

Słowa klucz: depresja, depresja oporna na leczenie, esketamina, farmakoterapia

Abstract

Depressive disorders have become growing problem among world population. Despite usage of standard treatment methods, in some cases clinical improvement is not achieved. Such condition, defined as treatment resistant depression, is a challenge to both medical professionals and patients. For this reason, available information on usage of ketamine and its derivatives as treatment potentialities in Treatment Resistant Depression (TRD) were reviewed in this work, in particular role of ketamine's (S)-enantiomer (esketamine) in intranasal application. Results of adduced researches unequivocally prove, that ketamine and its derivatives exhibit antidepressant effect and can be used in reduction of suicidal thoughts and tendencies. Continually, researches on the efficiency and safety of ketamine and its derivatives are performed, which shows its importance in the treatment of TRD.

Keywords: depression, treatment resistant depression, esketamine, pharmacotherapy

1. Wprowadzenie

Według Światowej Organizacji Zdrowia depresja dotyka blisko 3,8% ogólnej populacji, w tym 5,0% młodych dorosłych i 5,7% dorosłych powyżej 60 roku życia ¹. Zapadalność na depresję jest większa u kobiet niż u mężczyzn. W przypadku kobiet w 2019 roku wynosiła ona 4,5% na świecie. W tym samym roku wśród mężczyzn rozpowszechnienie zaburzeń depresyjnych szacowane było na 2,96% ¹. Depresja jest jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności oraz jedną z ważniejszych składowych obciążenia chorobami (ang. *burden of disease*) na świecie ¹. Do oceny obciążenia chorobami wykorzystuje się wskaźnik DALY (ang. *disability-adjusted life year*). Jeden DALY reprezentuje utratę równowartości jednego roku pełnego zdrowia na rzecz danej choroby. W 2019 roku w Polsce DALY w przypadku zaburzeń depresyjnych wyniosła 163198,2 w populacji ogólnej, co w przeliczeniu na 100000 osób oznacza 430,6 lat pełnego zdrowia utraconych na rzecz zaburzeń depresyjnych ².

Zaburzenia depresyjne to grupa zaburzeń, która, według ICD-11, obejmuje pojedynczy epizod depresyjny (6A70 – ang. *Single episode depressive disorder*), zaburzenia depresyjne nawracające (6A71 – ang. *Recurrent depressive disorder*), dystymię (A72 ang. *Dysthymic disorder*), mieszane zaburzenia depresyjne i zaburzenia lękowe (6A73 – ang. *Mixed depressive and anxiety disorder*), przedmiesiączkowe zaburzenia dysforyczne (GA34.41 -ang. *Premenstrual dysphoric disorder*), inne zaburzenia depresyjne (6A7Y – ang. *Other specified depressive disorders*) oraz zaburzenia depresyjne nieokreślone (6A7Z – ang. *Depressive disorders, unspecified*) ³. W dokładnej klasyfikacji zaburzeń depresyjnych uwzględnia się częstość ich występowania (pojedynczy epizod, nawrotowość), stopień nasilenia (łagodny, umiarkowany, ciężki, nieokreślony), obecność objawów psychiatrycznych (obecne lub bez) a także występowanie stanów remisji.

Do cech charakterystycznych zaburzeń depresyjnych zaliczamy depresyjny nastrój (np. smutek, drażliwość, poczucie pustki) lub anhedonię z towarzyszącymi jej kognitywnymi, behawioralnymi i neurowegetatywnymi objawami, które w sposób znaczący wpływają na funkcjonowanie jednostki. W przypadku wystąpienia u pacjenta epizodu manii, hipomanii lub epizodów mieszanych, obraz kliniczny wskazuje na występowanie u pacjenta zaburzeń dwubiegunowych i wyklucza rozpoznanie zaburzeń depresyjnych ³.

W Polsce do rozpoznania epizodu depresji wykorzystuje się kryteria ICD-11. Według nich, epizod depresji charakteryzuje się okresem depresyjnego nastroju oraz zmniejszonym zainteresowaniem czynnościami dnia codziennego, utrzymującym się przez okres co najmniej dwóch tygodni, przy

współwystępowaniu objawów takich jak: trudności z koncentracją, poczucie bezwartościowości lub nadmiernej i nieuzasadnionej winy, poczucie beznadziei, nawracające myśli o śmierci lub samobójstwie, zmiana apetytu i rytmu snu, pobudzenie lub spowolnienie ruchowe, a także zmniejszona energia i zmęczenie. Warunkami niezbędnymi do rozpoznania depresji jest występowanie epizodu depresji obecnie lub w przeszłości oraz wykluczenie uprzedniego epizodu manii, hipomanii czy epizodów mieszanych ³.

Do rozpoznania epizodu depresji wykorzystywane są również kryteria DSM-5. Na ich podstawie występowanie, od pewnego i możliwego do ustalenia czasu, niemal codziennie i przez większą część dnia, jednocześnie przez ≥ 2 tyg., ≥ 5 z wymienionych w tabeli nr 1 objawów, w tym ≥ 1 z dwóch pierwszych, pozwala na rozpoznanie u pacjenta epizodu depresji.

Tabela 1. Objawy epizodu depresji według kryteriów DSM-5

1.	Depresyjny nastrój
2.	Wyraźne zmniejszenie zainteresowania niemal wszystkimi czynnościami i/lub związanego z nimi uczucia przyjemności
3.	Wzmoczone lub osłabione łaknienie bądź znaczny spadek (niezwiązany ze stosowaniem diety) lub przyrost masy ciała (np. 5% w ciągu miesiąca)
4.	Bezsennność lub nadmierna senność
5.	Podniecenie lub spowolnienie psychoruchowe
6.	Uczucie zmęczenia lub utraty energii
7.	Poczucie własnej bezwartościowości lub nieuzasadnione poczucie winy
8.	Zmniejszenie sprawności myślenia, trudności w skupieniu uwagi lub podjęciu decyzji
9.	Nawracające myśli o śmierci (nie tylko obawy przed śmiercią)
10.	Nawracające myśli samobójcze bez określonego planu, podejmowanie prób samobójczych lub posiadanie planu popełnienia samobójstwa.

Według wytycznych American Psychiatric Association (APA) z 2019 roku, leczenie depresji w ogólnej populacji dorosłych powinno opierać się o psychoterapię i farmakoterapię. Zalecenia APA uwzględniają stosowanie leków przeciwdepresyjnych drugiej generacji (SSRI i SNRI), terapii behawioralnej, terapii kognitywnej, CBT (ang. *Cognitive Behavioral Therapy*) i MBCT (ang. *Mindfulness Based Cognitive Therapy*), a także psychoterapii interpersonalnej, terapii psycho-dynamicznych oraz terapii wspomagających, jako początkowych metod leczenia. W przypadku wystąpienia częściowego lub całkowitego braku odpowiedzi na leczenie I-rzutu w przypadku dorosłych pacjentów, zaleca się zmianę farmakoterapii, jako monoterapii, na terapię kognitywną lub

zmianę stosowanych leków przeciwdepresyjnych na inne leki o tym samym działaniu. Dodatkowo, w przypadku braku odpowiedzi na leczenie pierwszego rzutu, zaleca się dołączenie psychoterapii do farmakoterapii oraz augmentację leczenia farmakologicznego dodatkowymi lekami przeciwdepresyjnymi ⁴.

Szczególną postacią zaburzeń depresyjnych jest depresja oporna na leczenie (ang. *Treatment Resistant Depression*; TDR). U dorosłych można ją rozpoznać w przypadku, gdy u pacjenta nie wstąpił efekty terapeutyczny po zastosowaniu farmakoterapii co najmniej dwoma lekami przeciwdepresyjnymi, stosowanymi w odpowiedniej dawce i przez odpowiedni czas, w obecnym epizodzie depresji o nasileniu od umiarkowanego po ciężkie ⁵. W przypadku rozpoznania TRD należy rozważyć możliwe strategie postępowania, które obejmują: „(1) optymalizację dawki leku i czasu jego przyjmowania, (2) zmianę leku przeciwdepresyjnego, (3) augmentację leków przeciwdepresyjnych, (4) potencjalizację oraz (5) terapie nefarmakologiczne (terapia elektrowstrząsowa (ang. *electroconvulsive therapy*; ECT) i stymulacja nerwu błędnego (ang. *vagus nerve stimulation*; VNS))” ⁵. Potencjalizacji w leczeniu TRD można dokonać m.in. stosując esketaminę, której mechanizm działania oraz skuteczność w leczeniu TDR zostały przedstawione w niniejszym rozdziale.

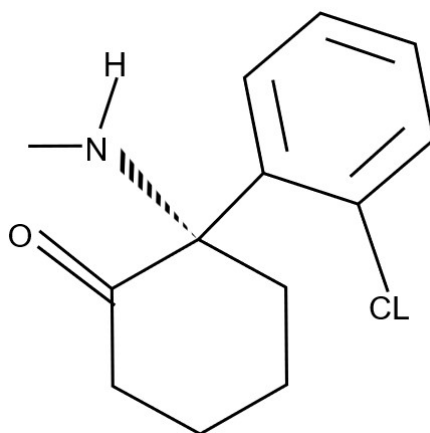
2. Ketamina

2.1. Informacje ogólne i zastosowanie

Ketamina jest lekiem z grupy anestetyków dożylnych, stosowanym do wprowadzenia i podtrzymania znieczulenia ogólnego, głównie u osób z objawami wstrząsu oraz w leczeniu oparzeń ⁶. Lek ten jest najczęściej podawany donaczyniowo, ale może również być podawany podskórnie, domięśniowo, przezskórnie, donosowo, doodbytniczo lub doustnie ⁷.

2.2. Budowa chemiczna i właściwości

Ketamina ((RS)-2-(2-chlorofenyl)-2-(N-metyloamino)-cykloheksanon) jest pochodną fencyklidyny ^{8,6}. Posiada jeden asymetryczny atom węgla i centrum chiralne oraz występuje w postaci dwóch enancjomerów: S (esketamina) i R (arketamina). W lecznictwie stosuje się zarówno mieszaninę racemiczną jak i sam enancjomer (+S) ⁹.



Rycina 1. Wzór strukturalny Ketaminy (3)

2.3. Mechanizm działania

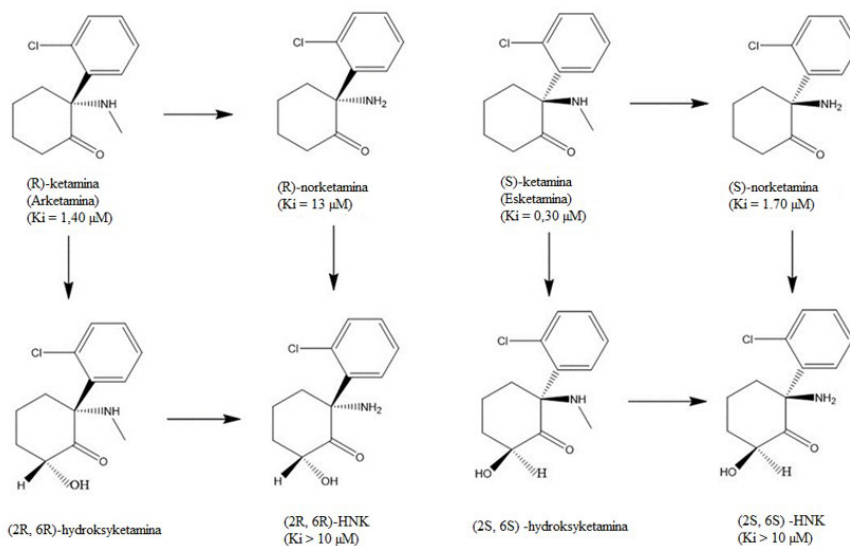
Ketamina jest inhibitorem receptora dla glutaminianu selektywnie aktywowanego przez kwas N-metylo-D-asparaginowy, który został wprowadzony do lecznictwa w latach 60. XX wieku jako alternatywa dla fencyklidyny^{7,9,10}. Ketamina oprócz działania znieczulającego wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe oraz przeciwdepresyjne. Działanie znieczulające oraz właściwości przeciwbólowe przypisuje się bezpośredniemu blokowaniu receptorów NMDA. Ponadto ketamina wykazuje powinowactwo do innych receptorów oraz kanałów jonowych, takich jak receptory dla kwasu γ -aminomasłowego (GABA), dopaminergiczne, serotoninerigiczne, sigma, opioidowe i cholinergiczne, kanały sodowe bramkowane napięciem oraz kanały aktywowane hiperpolaryzacją cyklicznych peptydów¹¹. Wykazano wzrost ogólnej aktywności w korze przedczołowej u zdrowych ochotników, którym podano esketaminę, co prawdopodobnie było spowodowane preferencyjnym hamowaniem receptorów NMDA na interneuronach GABA-ergicznych^{11,12}. Esketamina wykazuje 2 razy silniejsze działanie analgetyczne od mieszaniny racemicznej oraz 3 razy silniejsze działanie od arketaminy¹³. Ketamina wykazuje szybkie oraz długie działanie przeciwdepresyjne dzięki niekompetyjnemu blokowaniu receptora NMDA¹⁴.

Ketamina powoduje anestezję dysocjacyjną, która jest rodzajem katalepsji, w którym chory wydaje się być zamknięty, odcięty od otoczenia. Stan ten wiąże się z niepamięcią wsteczną oraz bezbolesnością, nie upośledza on jednak obronnych odruchów gardłowych⁶.

2.4. Właściwości farmakokinetyczne

Biodostępność ketaminy po podaniu doustnym jest niewielka i wynosi 8-24%¹⁵. Ketamina jest szybko metabolizowana; ulega redystrybucji w osoczu po 2-4 minutach a jej okres półtrwania w osoczu wynosi 2,5h⁷. Około 53,5% podanej dawki leku ulega wiązaniu z białkami osocza¹⁶. Ketamina ulega eliminacji w ok. 95% z moczem, w mniejszym stopniu wydalana jest z kałem oraz żółcią, a klirens wynosi 95L/h^{17,18}.

Ketamina ulega biotransformacji w wątrobie przez cytochrom P450, głównie przez CYP2B6 i CYP3A4¹⁹. Ketamina jest metabolizowana do norketaminy (80%) poprzez hydroksylację oraz może być metabolizowana do 4- i 5-hydroksyketaminy (5%). Norketamina jest przekształcana w 4-, 5- i 6-hydroksynorketaminę (HNK) w 15%²⁰. HNK posiada właściwości znieczulające oraz działanie przeciwdepresyjne pomimo braku oddziaływania na receptory NMDA^{19,20}.



Rycina 2 Przemiany metaboliczne enancjomerów ketaminy¹⁹

2.5. Działania niepożądane

Przyjmowanie ketaminy może wiązać się z występowaniem działań niepożądanych, spośród których największe znaczenie mają potencjalne negatywne skutki oddziaływania ketaminy na układ sercowo-naczyniowy oraz układ nerwowy.

Stosowanie ketaminy zostało powiązane z możliwym występowaniem niepokoju, a także pobudzeniem lub drażliwością, euforią lub podwyższeniem nastroju, urojeniami lub nietypowymi myślami, paniką i apatią. Mniej powszechnymi skutkami ubocznymi były oderwanie, stępienie emocjonalne, psychoza, emocjonalna labilność, pożądanie uwagi i zaburzenie myślenia formalnego²¹. Arketamina wywiera mniej działań nieporządkanych niż ketamina oraz esketamina przy silniejszym działaniu przeciwdepresyjnym. Podobnie metabolit esketaminy, S-norketamina wywiera mniej działań niepożądanych niż esketamina przy podobnym działaniu przeciwdepresyjnym¹³.

Wśród działań na układ krążenia można zaobserwować wzrost ciśnienia śródczaszkowego, wzrost częstości skurczów serca oraz wzrost ciśnienia tętniczego⁶.

3. Badania kliniczne

Pomimo wieloletniej obecności na rynku leków, próby wykorzystania enancjomera ketaminy (S) w leczeniu depresji opornej na leczenie zostały podjęte stosunkowo niedawno. W 2016 roku Singh B Jaskarn i wsp. przeprowadzili badanie dotyczące zastosowania esketaminy podanej dożylnie w leczeniu dorosłych pacjentów z TRD²². Przy wykorzystaniu esketaminy i.v. w dawkach 20 mg/kgmc, 40 mg/kgmc oraz placebo, wykazano szybkie (w ciągu 2 godzin) oraz silne działanie przeciwdepresyjne esketaminy u odpowiednio 67% i 64% badanych. Działanie to było porównywalne dla obu stosowanych dawek, co mogło sugerować, że wykorzystanie mniejszej dawki leku pozwala uzyskać efekt terapeutyczny przy lepszej tolerancji i mniej nasilonych działaniach niepożądanych.

W 2017 roku na Uniwersytecie Utrecht we współpracy z Centre for Human Drug Research (CHDR) sprawdzono wpływ esketaminy podanej donosowo, na zdolność prowadzenia pojazdów mechanicznych²³. W badaniu wykorzystano również mitrazepinę p.o. w dawce 30 mg, lek przeciwdepresyjny o potwierdzonym negatywnym wpływie na zdolność prowadzenia pojazdów oraz placebo. Wyniki badania wykazały, że podanie 84 mg esketaminy donosowo nie wywołuje negatywnego wpływu na zdolność prowadzenia pojazdów mechanicznych 8 godzin po podaniu, w odróżnieniu do mirtazapiny.

W lutym 2018 roku ukazało się pierwsze badanie kliniczne sprawdzające skuteczność donosowej esketaminy wśród pacjentów z TRD²⁴. W badaniu Elly J Daly i wsp. sprawdzono skuteczność i bezpieczeństwo esketaminy podawanej donosowo w dawkach 28mg, 56mg oraz 84 mg na grupie 126 dorosłych

ciepiących na TRD, z czego analizie poddano 67 uczestników. Stosowanie każdej z dawek esketaminy zostało uznane za bezpieczne oraz powodowało znaczącą poprawę nastroju uczestników, określoną na podstawie MADRS. Dodatkowo wykazano, że skuteczność leczenia jest ściśle powiązana ze stosowaną dawką leku.

Również w lutym 2018 roku zostało opublikowane badanie ukazujące wpływ jednorazowej dawki donosowej esketaminy 84 mg na funkcje poznawcze wśród zdrowych ochotników²⁵. W badaniu wzięły udział 24 dorosłe osoby między 19 a 49 rokiem życia. Były to osoby zdrowe psychicznie, bez stwierdzonej wcześniej przebytej choroby psychicznej. Badanie to wykazało, że u zdrowych osób donosowe podanie 84mg esketaminy wywołuje przejściowe upośledzenie funkcji poznawczych, objawiające się wydłużeniem czasu wykonywania danych zadań oraz zwiększoną częstością popełnianych błędów, w porównaniu do osób przyjmujących placebo, w 40 minucie od podania leku. Dodatkowo po podaniu esketaminy u badanych występowała wzmożona senność, do oceny której wykorzystano Karolińską Skalę Senności KSS. Natomiast po 2, 4- i 6- godzinach od podania wyniki obu badanych grup były porównywalne, co świadczy o braku trwałego negatywnego wpływu esketaminy podanej donosowo na funkcje poznawcze badanych.

Kolejnym badaniem, na które warto zwrócić uwagę, jest przeprowadzona przez Carla M Canuso i wsp. ocena skuteczności oraz bezpieczeństwa stosowania donosowej esketaminy w szybkiej redukcji objawów ciężkich zaburzeń depresyjnych oraz zapobieganiu próbom samobójczym, w porównaniu z tradycyjnymi lekami stosowanymi w leczeniu depresji lub placebo²⁶. W badaniu wzięło udział 68 chorych dorosłych, którzy, w odróżnieniu od typowych uczestników badań nad działaniem leków antydepresyjnych, prezentowali objawy ciężkich zaburzeń depresyjnych oraz mieli myśli samobójcze. Uczestnicy otrzymywali, poza standardowym leczeniem, donosową esketaminę w dawce 84 mg lub placebo dwa razy dziennie przez 4 tygodnie. Podanie esketaminy skutecznie poprawiło stan psychiczny pacjentów po 4 i 24 godzinach od podania. Skuteczność esketaminy w redukcji myśli samobójczych obserwowano do 4 godzin od podania leku. Według autorów pracy, esketamina mogłaby stanowić uzupełnienie standardowej terapii, ze względu na możliwość stosowania jej w okresie luki terapeutycznej, wstępującej przy stosowaniu leków o opóźnionym działaniu.

W 2019 roku opublikowano wyniki badania dotyczącego skuteczności i bezpieczeństwa stosowania donosowej esketaminy w skojarzeniu z lekiem przeciwdepresyjnym podanym doustnie u pacjentów z TRD²⁶. Badanie

prowadzono w 39 centrach referencyjnych na terenie Czech, Niemiec, Polski, Hiszpanii oraz Stanów Zjednoczonych od 2015 do 2017 roku. Wykazano w nim klinicznie znaczące i statystycznie istotne (ocenione na podstawie skali MADRS) zmniejszenie występujących objawów depresji u badanych po zastosowaniu donosowej esketaminy, w skojarzeniu z nowo dobranym doustnym lekiem przeciwdepresyjnym, w porównaniu z placebo podanym donosowo, skojarzonym z doustnym lekiem przeciwdepresyjnym.

W 2020 roku ukazały się wyniki badań nad bezpieczeństwem oraz tolerancją esketaminy w skojarzeniu z lekiem przeciwdepresyjnym w leczeniu TRD przy długotrwałym jej stosowaniu. Badanie trwało od października 2015 roku do października 2017 roku ²⁷. Esketaminę podawano donosowo w trzech dawkach 28, 56 i 84 mg dwa razy w tygodniu w czterotygodniowej fazie indukcji, a następnie co tydzień lub co dwa tygodnie. Redukcja objawów depresji nastąpiła u badanych w przeciągu czterech pierwszych tygodni leczenia i utrzymywała się przez rok, w trakcie którego prowadzono leczenie. Badania wykazały utrzymanie poprawy stanu zdrowia chorych oraz optymalny profil bezpieczeństwa.

Rosnące zainteresowanie esketaminą, a także jej znaczenie w leczeniu TRD, przejawia się coraz większą ilością badań oraz analiz jej działania. Prowadzone są badania nad skutecznością esketaminy w skojarzeniu z innymi doustnymi lekami przeciwdepresyjnymi w terapii TRD, bezpieczeństwem jej stosowania oraz występującymi działaniami niepożądanymi ^{26,29,30,33}. Istotne znaczenie mają również badania oceniające skuteczność esketaminy w przeciwdziałaniu samobójstwom ^{28,32}. Wyniki badań są obiecujące i wykazują istotne korzyści zarówno w krótkotrwałym, jak i długotrwałym leczeniu depresji.

4. Dyskusja

Przeprowadzone dotychczas badania dotyczące skuteczności esketaminy w leczeniu zaburzeń depresyjnych jasno wskazują na jej skuteczność i potencjalnie szybkie działanie. U pacjentów cierpiących na depresję oporną na leczenie (TRD) potwierdzono, że stosowanie leku przyczynia się natychmiastowej redukcji myśli i tendencji samobójczych. Efekt zauważalny jest w nawet w ciągu 15 min po podaniu, i utrzymuje się nawet 4-7 dni. Donosowa esketamina charakteryzuje się większą biodostępnością (45%) w porównaniu do tabletki doustnej lub podjęzykowej (odpowiednio 20% i 30%) co również wpływa na czas działania leku ³⁴.

Zastosowanie esketaminy w połączeniu z lekami przeciwdepresyjnymi przyczynia się do znaczącego opóźnienia nawrotu objawów choroby^{35,36,37}. Po zastosowaniu u pacjentów leczenia podtrzymującego w którym otrzymywali oni obie substancje, nawrót choroby wystąpił jedynie u 27% pacjentów, w porównaniu do 45% które przyjmowało jedynie doustne leki przeciwdepresyjne³⁵.

Pomimo licznych badań przemawiających za skutecznością zarówno ketaminy jak i esketaminy w leczeniu TRD⁴⁰, prowadzone w ostatnich latach badania kliniczne z wykorzystaniem arketaminy w leczeniu depresji jasno wskazują na jej skuteczniejsze działanie w porównaniu do esketaminy⁴¹. Arketamina, będąca jednym z enancjomerów ketaminy, wykazuje bardziej skuteczne i trwalsze działanie przeciwdepresyjne. Co więcej, nie wywołuje ona działań niepożądanych po podaniu, co stanowi ją bezpieczniejszą w stosowaniu od ketaminy i esketaminy⁴¹.

Do najczęstszych działań niepożądanych obserwowanych przy stosowaniu esketaminy należą nudności, zaburzenia dysocjacyjne i zawroty głowy, wzrost ciśnienia śródczaszkowego oraz tachykardia. U pacjentów obserwuje się również chwilowy wzrost ciśnienia krwi, który osiąga swój szczyt po około 40 minutach, i ustępuje około 1,5 godziny po podaniu. Wśród pozostałych działań niepożądanych występują m.in.: lęk, nudności, ośpienie lub zaburzenia funkcjonowania układu moczowego. Występujące skutki uboczne zanikają po kilku godzinach od podania leku, a ich nasilenie zmniejsza się wraz z częstotliwością przyjmowania leku. Obecnie wśród pacjentów nie obserwuje się nadużycia esketaminy^{28,38,5}.

Lek zawierający esketaminę, czyli Spravato, występuje w formie aerozolu do nosa. Jest lekiem przeznaczonym do samodzielnego stosowania przez pacjenta, a cały proces odbywa się w obecności lekarza monitorującego stan pacjenta. W jednym dozowniku znajduje się 28 mg leku, który pozwala na podanie leku do obu otworów nosowych. Terapia lekiem Spravato powinna trwać około 6 miesięcy, dzieli się ona na 3 fazy: fazę indukcji (tydzień 1-4, podanie 2 razy w tygodniu), fazę podtrzymującą I (tydzień 5-12, podanie 1 raz w tygodniu) oraz fazę podtrzymującą II (od 13 tygodnia, podanie raz na dwa tygodnie)³⁸. Cena jednej dawki Spravato wynosi 1050 zł, a lek nie jest w Polsce refundowany³⁹. Stosowanie esketaminy może więc okazać się trudne i niedostępne dla wszystkich pacjentów.

Leczenie esketaminą nie powinno być stosowane u pacjentów wykazujących nadwrażliwość na ketaminę lub esketaminę, a także u pacjentów cierpiących na ciężką niewydolność wątroby. Ze względu na prawdopodobieństwo

wystąpienia wzrostu ciśnienia tętniczego krwi, esketamina nie powinna być również podawana u pacjentów cierpiących na nadciśnienie oraz choroby serca ³⁸. Ostrożność należy zachować również w przypadku pacjentów z epizodem psychiatrycznym, depresją z objawami psychiatrycznymi, chorobą afektywną dwubiegunową (ChAD) lub pokrewnymi zaburzeniami, ponieważ stosowanie esketaminy może nasilać objawy psychiatryczne. Obecnie stosowanie esketaminy jest zatwierdzone tylko dla osób dorosłych. Do tej pory nie przeprowadzono badań dotyczących wpływu esketaminy na kobiety w ciąży oraz pacjentów poniżej 18 roku życia ³⁴.

Warto zauważyć, że obecnie jedynym lekiem zawierającym esketaminę, dopuszczonym w leczeniu depresji opornej na leczenie (TRD), jest lek marki Spravato. Brak substytutów stanowiących odpowiednik leku, może przyczynić się do rozwoju monopolu na rynku leków antydepresyjnych stosowanych w leczeniu TRD. Obecnie cena leku wynosi 1050 zł za pojedynczy dozownik, a lek nie podlega refundacji. Rozwój monopolu oraz wiążący się z tym brak konkurencyjności na rynku, może przyczynić się do utrzymania tak wysokiej kwoty za pojedynczą dawkę lub wzrostu ceny leku. Znaczące koszty terapii esketaminą mogą stanowić znaczącą przeszkodę dla wielu pacjentów, co uniemożliwi im rozpoczęcie skutecznej terapii przyczyniającej się do poprawy jakości ich życia.

5. Podsumowanie

Zaburzenia depresyjne to grupa chorób zaliczanych do zaburzeń nastroju. Do ich rozpoznania wykorzystuje się kryteria DSM-V, a w klasyfikacji uwzględnia się ich częstotliwość występowania epizodów depresji, ich nasilenie oraz występowanie objawów psychiatrycznych. Szczególną postacią zaburzeń depresyjnych jest depresja oporna na leczenie, w której leczenie I rzutu w postaci farmakoterapii bądź psychoterapii, a także leczenie II rzutu nie przyniosły wymiernych efektów terapeutycznych. W leczeniu TRD stosuje się różne strategie postępowania, między innymi potencjalizację leczenia przy pomocy esketaminy.

Ketamina jest pochodną fencyklidyny (3; 1), która występuje w postaci dwóch enancjomerów: S (esketamina) i R (arketamina). W farmakoterapii wykorzystywane są zarówno mieszanina racemiczna, jak i esketamina. Ketamina jest lekiem z grupy anestetyków dożylnych stosowanym do wprowadzenia i podtrzymania znieczulenia ogólnego, natomiast jej działanie, jako inhibitora receptora dla glutaminianu selektywnie aktywowanego przez NMDA na

interneuronach GABA-ergicznych, pozwoliło na zastosowanie leku w terapii depresji. Ze względu na małą biodostępność przy podaniu doustnym w leczeniu TDR wykorzystywane jest podanie donosowe esketaminy w postaci aerozolu oraz podanie dożylnie.

Skuteczność esketaminy, jej profil bezpieczeństwa oraz możliwe skutki jej stosowania w leczeniu depresji stanowią temat rosnącej liczby badań naukowych. Do tej pory wykazano, że ma ona szybkie, zależne od dawki, działanie przeciwdepresyjne, a także pozwala na czasowe ograniczenie myśli samobójczych^{22,24,26}. Pomimo przejściowego negatywnego wpływu na funkcje poznawcze, esketamina nie wpływa negatywnie na zdolność prowadzenia pojazdów mechanicznych po 8 godzinach od jej podania^{23,25}. Działanie przeciwdepresyjne esketaminy oceniane jest również w skojarzeniu z doustnymi lekami przeciwdepresyjnymi, tak przy krótkotrwałym jak i przy długotrwałym stosowaniu^{26,28}.

Pomimo możliwych działań niepożądanych oraz wysokiej ceny terapii, esketamina, szczególnie w podaniu donosowym, stanowi istotny, nowoczesny lek w leczeniu ciężkich zaburzeń depresyjnych, depresji opornej na leczenie oraz w zapobieganiu próbom samobójczym. Z tego względu ważny jest dalszy rozwój badań nad esketaminą, w tym nad bezpieczeństwem jej stosowania u dzieci i kobiet w ciąży oraz pojawienie się konkurencyjnych produktów do obecnie jednego leku dostępnego na rynku w postaci aerozolu Spravato.

Bibliografia

1. Clinical Practice Guideline for the Treatment of Depression Across Three Age Cohorts. <https://www.apa.org/depression-guideline>. Published 2022. Accessed February 4, 2022..
2. GBD Results Tool | GHDx. [Ghdx.healthdata.org](https://ghdx.healthdata.org). (2022). Retrieved 4 February 2022, from 2. GBD Results Tool | GHDx. [Ghdx.healthdata.org](https://ghdx.healthdata.org). <http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/d780dffbe8a381b25e1416884959e88b>. Published 2022. Accessed February 4, 2022.
3. Global health estimates: Leading causes of DALYs. [Who.int. https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/global-health-estimates-leading-causes-of-dalys](https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/global-health-estimates-leading-causes-of-dalys). Published 2022. Accessed February 4, 2022.

4. ICD-11 for Mortality and Morbidity Statistics. Icd.who.int. <https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http%3a%2f%2fid.who.int%2fd%2fentity%2f334423054>. Published 2022. Accessed February 4, 2022.
5. Gałecki P, Bliźniewska-Kowalska K. Treatment-resistant depression - recommendations of the National Consultant in the field of psychiatry. Depresja oporna na leczenie – zalecenia Konsultanta Krajowego w dziedzinie psychiatrii. *Psychiatr Pol.* 2021;55(1):7-21. doi:10.12740/PP/OnlineFirst/115208
6. Janiec W, Folwarczna J, Cegieła U et al. *Kompedium Farmakologii*. Warszawa: PZWL; 2021.
7. Abdallah CG, Adams TG, Kelmendi B, Esterlis I, Sanacora G, Krystal JH. KETAMINE'S MECHANISM OF ACTION: A PATH TO RAPID-ACTING ANTIDEPRESSANTS. *Depress Anxiety.* 2016;33(8):689-697. doi:10.1002/da.22501
8. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 3821, Ketamine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ketamine>. Accessed Apr. 27, 2022.
9. Kamp J, Olofsen E, Henthorn TK, et al. Ketamine Pharmacokinetics. *Anesthesiology.* 2020;133(6):1192-1213. doi:10.1097/ALN.0000000000003577
10. Hashimoto K. Molecular mechanisms of the rapid-acting and long-lasting antidepressant actions of (R)-ketamine. *Biochem Pharmacol.* 2020;177:113935. doi:10.1016/j.bcp.2020.113935
11. Zanos P, Moaddel R, Morris PJ, et al. Ketamine and Ketamine Metabolite Pharmacology: Insights into Therapeutic Mechanisms [published correction appears in *Pharmacol Rev.* 2018 Oct;70(4):879]. *Pharmacol Rev.* 2018;70(3):621-660. doi:10.1124/pr.117.015198
12. Breier A, Malhotra AK, Pinals DA, Weisenfeld NI, Pickar D. Association of ketamine-induced psychosis with focal activation of the prefrontal cortex in healthy volunteers. *Am J Psychiatry.* 1997;154(6):805-811. doi:10.1176/ajp.154.6.805

13. Hashimoto K. Rapid-acting antidepressant ketamine, its metabolites and other candidates: A historical overview and future perspective. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019;73(10):613-627. doi:10.1111/pcn.12902
14. Zanos P, Gould T. Mechanisms of ketamine action as an antidepressant. *Mol Psychiatry*. 2018;23(4):801-811. doi:10.1038/mp.2017.255
15. Peltoniemi MA, Hagelberg NM, Olkkola KT, Saari TI. Ketamine: A Review of Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Anesthesia and Pain Therapy. *Clin Pharmacokinet*. 2016;55(9):1059-1077. doi:10.1007/s40262-016-0383-6
16. Kaka JS, Hayton WL. Pharmacokinetics of ketamine and two metabolites in the dog. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1980;8(2):193-202. doi:10.1007/BF01065193
17. Ketamine: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online. Go.drugbank.com. <https://go.drugbank.com/drugs/DB01221#reference-L1336>. Published 2022. Accessed February 4, 2022.
18. Fanta S, Kinnunen M, Backman JT, Kalso E. Population pharmacokinetics of S-ketamine and norketamine in healthy volunteers after intravenous and oral dosing. *Eur J Clin Pharmacol*. 2015;71(4):441-447. doi:10.1007/s00228-015-1826-y
19. Kamp J, Jonkman K, van Velzen M, et al. Pharmacokinetics of ketamine and its major metabolites norketamine, hydroxynorketamine, and dehydronorketamine: a model-based analysis. *Br J Anaesth*. 2020;125(5):750-761. doi:10.1016/j.bja.2020.06.067
20. Wei Y, Chang L, Hashimoto K. Molecular mechanisms underlying the antidepressant actions of ketamine: beyond the NMDA receptor. *Mol Psychiatry*. 2022;27(1):559-573. doi:10.1038/s41380-021-01121-1
21. Short B, Fong J, Galvez V, Shelker W, Loo CK. Side-effects associated with ketamine use in depression: a systematic review. *Lancet Psychiatry*. 2018;5(1):65-78. doi:10.1016/S2215-0366(17)30272-9

22. Singh JB, Fedgchin M, Daly E, et al. Intravenous Esketamine in Adult Treatment-Resistant Depression: A Double-Blind, Double-Randomization, Placebo-Controlled Study. *Biol Psychiatry*. 2016;80(6):424-431. doi:10.1016/j.biopsych.2015.10.018
23. van de Loo AJAE, Bervoets AC, Mooren L, et al. The effects of intranasal esketamine (84 mg) and oral mirtazapine (30 mg) on on-road driving performance: a double-blind, placebo-controlled study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2017;234(21):3175-3183. doi:10.1007/s00213-017-4706-6
24. Daly EJ, Singh JB, Fedgchin M, et al. Efficacy and Safety of Intranasal Esketamine Adjunctive to Oral Antidepressant Therapy in Treatment-Resistant Depression: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*. 2018;75(2):139-148. doi:10.1001/jamapsychiatry.2017.3739
25. Morrison RL, Fedgchin M, Singh J, et al. Effect of intranasal esketamine on cognitive functioning in healthy participants: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Psychopharmacology (Berl)*. 2018;235(4):1107-1119. doi:10.1007/s00213-018-4828-5
26. Canuso, C., Singh, J., Fedgchin, M., Alphs, L., Lane, R., & Lim, P. et al. (2018). Efficacy and Safety of Intranasal Esketamine for the Rapid Reduction of Symptoms of Depression and Suicidality in Patients at Imminent Risk for Suicide: Results of a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *American Journal Of Psychiatry*, 175(7), 620-630. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.17060720>
27. Wajs E, Aluisio L, Holder R, et al. Esketamine Nasal Spray Plus Oral Antidepressant in Patients With Treatment-Resistant Depression: Assessment of Long-Term Safety in a Phase 3, Open-Label Study (SUSTAIN-2). *J Clin Psychiatry*. 2020;81(3):19m12891. Published 2020 Apr 28. doi:10.4088/JCP.19m12891
28. Ionescu DF, Fu DJ, Qiu X, et al. Esketamine Nasal Spray for Rapid Reduction of Depressive Symptoms in Patients With Major Depressive Disorder Who Have Active Suicide Ideation With Intent: Results of a Phase 3, Double-Blind, Randomized Study (ASPIRE II). *Int J Neuropsychopharmacol*. 2021;24(1):22-31. doi:10.1093/ijnp/pyaa068

29. Hudgens S, Floden L, Blackowicz M, et al. Meaningful Change in Depression Symptoms Assessed with the Patient Health Questionnaire (PHQ-9) and Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale (MADRS) Among Patients with Treatment Resistant Depression in Two, Randomized, Double-blind, Active-controlled Trials of Esketamine Nasal Spray Combined With a New Oral Antidepressant. *J Affect Disord.* 2021;281:767-775. doi:10.1016/j.jad.2020.11.066
30. Doty RL, Popova V, Wylie C, et al. Effect of Esketamine Nasal Spray on Olfactory Function and Nasal Tolerability in Patients with Treatment-Resistant Depression: Results from Four Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase III Studies. *CNS Drugs.* 2021;35(7):781-794. doi:10.1007/s40263-021-00826-9
31. Turkoz I, Daly E, Singh J, et al. Treatment Response With Esketamine Nasal Spray Plus an Oral Antidepressant in Patients With Treatment-Resistant Depression Without Evidence of Early Response: A Pooled Post Hoc Analysis of the TRANSFORM Studies. *J Clin Psychiatry.* 2021;82(4):20m13800. Published 2021 Jul 20. doi:10.4088/JCP.20m13800
32. Canuso CM, Ionescu DF, Li X, et al. Esketamine Nasal Spray for the Rapid Reduction of Depressive Symptoms in Major Depressive Disorder With Acute Suicidal Ideation or Behavior. *J Clin Psychopharmacol.* 2021;41(5):516-524. doi:10.1097/JCP.0000000000001465
33. Takahashi N, Yamada A, Shiraishi A, Shimizu H, Goto R, Tomi-naga Y. Efficacy and safety of fixed doses of intranasal Esketamine as an add-on therapy to Oral antidepressants in Japanese patients with treatment-resistant depression: a phase 2b randomized clinical study. *BMC Psychiatry.* 2021;21(1):526. Published 2021 Oct 25. doi:10.1186/s12888-021-03538-y
34. Cichocka A, Rozenek E, Michałowska K, Szewczak B, Waszkiewicz N. Znaczenie esketaminy w leczeniu depresji lekoopornej. Czy oka-że się lekiem przełomowym?. *Psychiatria.* 2021. doi:10.5603/psych.a2021.0026
35. UpToDate. Uptodate.com. <https://www.uptodate.com/contents/ketamine-and-esketamine-for-treating-unipolar-depression-in-adu-Its-administration-efficacy-and-adverse-effects/contributors#!>. Pu-blished 2022. Accessed March 12, 2022.

36. Daly EJ, Trivedi MH, Janik A, et al. Efficacy of Esketamine Nasal Spray Plus Oral Antidepressant Treatment for Relapse Prevention in Patients With Treatment-Resistant Depression: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Psychiatry*. 2019;76(9):893-903. doi:10.1001/jamapsychiatry.2019.1189
37. Missouri Society of Health-System Pharmacists - MSHP Blog. Moshp.org. <https://www.moshp.org/blog?pg=10,6>. Published 2022. Accessed March 12, 2022.
38. Esketamine Nasal Spray: What Is It, Uses, Side Effects - Health Guide. Health Guide. <https://ro.co/health-guide/esketamine-nasal-spray/>. Published 2022. Accessed March 12, 2022.
39. Spravato® (esketamina) - leczenie depresji lekooopornej - PsychoMedic.pl. Poradnia Psychologiczno-Psychiatryczna - PsychoMedic.pl. <https://psychomedic.pl/leczenie-depresji-lekooopornej/>. Published 2022. Accessed March 12, 2022.
40. Correia-Melo FS, Leal GC, Vieira F, et al. Efficacy and safety of adjunctive therapy using esketamine or racemic ketamine for adult treatment-resistant depression: A randomized, double-blind, non-inferiority study. *J Affect Disord*. 2020;264:527-534. doi:10.1016/j.jad.2019.11.086
41. Leal GC, Bandeira ID, Correia-Melo FS, et al. Intravenous arketamine for treatment-resistant depression: open-label pilot study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2021;271(3):577-582. doi:10.1007/s00406-020-01110-5

NANOCZĄSTECZKI - PRZEGLĄD I WYKORZYSTANIE W MEDYCYNIE

PATRYK WALOCHA, MICHAŁ WILK

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

Abstrakt

Miniaturyzacja systemów technologicznych w ciągu ostatnich trzech dekad, stała się jednym z dominujących trendów nauki, prowadząc do gwałtownego rozwoju dziedziny, jaką jest nanotechnologia. Dziedzina ta, dzięki możliwości operowania i ingerencji na poziomie nanometrowym, szybko znalazła zastosowanie w medycynie, a jednym z jej głównych osiągnięć są nanomateriały. Struktury owych nanomateriałów nie przekraczają 100 nm przynajmniej w jednym wymiarze, co umożliwia manipulację w skali miliardowej milimetra, nadając im unikatowe właściwości fizykochemiczne i biologiczne, nieosiągalne w mikro - i makrocząsteczkach. Obecnie najczęściej stosowane są nanocząsteczkami srebra i złota oraz polimerowe, ale wyróżniamy także nanonośniki lipidowe, kropki kwantowe, nanocząsteczki magnetyczne, fulereny, nanorurki węglowe i dendrymery. Szerokie spektrum zróżnicowania tych związków warunkuje ich rozległe zastosowanie w wykrywaniu cząsteczek biologicznych, dystrybucji leków, obrazowania tkanek i innowacyjnych terapiach zwalczania komórek nowotworowych, dzięki czemu narodziły się takie dziedziny medycyny jak nanoonkologia czy nanodiagnostyka. Celem niniejszej pracy jest scharakteryzowanie i dokładne przedstawienie wykorzystywanych w medycynie nanomateriałów z uwzględnieniem ich rozmaitych właściwości i głównych zastosowań.

Słowa kluczowe: nanocząsteczka, nanomateriał, nanoonkologia, dystrybucja leków, nanodiagnostyka

Abstract

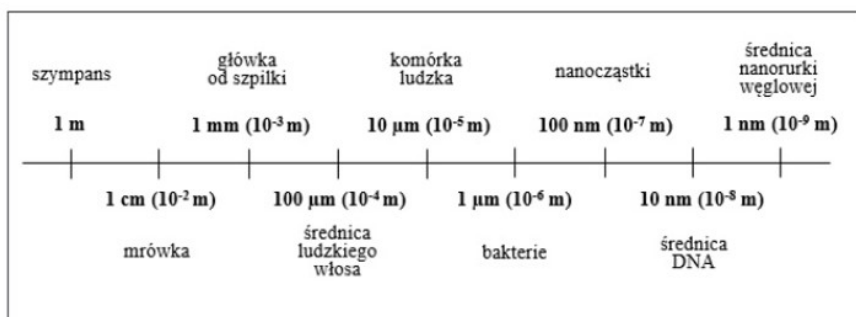
The miniaturization of technological systems over the last three decades has become one of the dominant trends in science, leading to the rapid development of the field of nanotechnology. This branch of science, thanks to the ability to operate and interfere at the nanometer level, quickly found application in medicine, and one of its main achievements are nanomaterials. The structures of these nanomaterials do not exceed 100 nm in at least one dimension, which allows manipulation in the billionth of a millimeter, giving them unique physicochemical and biological properties, unattainable in micro - and macromolecules. Currently, the most commonly used are silver and gold nanoparticles and polymer nanoparticles, but we also distinguish lipid nanocarriers, quantum dots, magnetic nanoparticles, fullerenes, carbon nanotubes and dendrimers. The wide spectrum of differentiation of these compounds determines their extensive use in the detection of biological molecules, drug distribution, tissue imaging and innovative therapies to combat cancer cells, thanks to which such fields of medicine as nanooncology and nanodiagnosics were born. The purpose of this review is to characterize and accurately present nanomaterials used in medicine, taking into account their various properties and main applications.

Keywords: nanoparticle, nanomaterial, nanooncology, drug distribution, nanodiagnosics

1. Wprowadzenie

W obecnych czasach nanotechnologia wydaje się zagadnieniem względnie nowym, nieco futurystycznym, tymczasem początki tej dziedziny sięgają roku 1959, kiedy na sesji Amerykańskiego Towarzystwa Fizycznego, profesor kalifornijskiego instytutu techniki i przyszły noblista Richard Feynman wygłosił wykład zatytułowany „*There's plenty of room at the bottom*”, sugerując możliwość tworzenia nanowymiarowych struktur, których budulcem będą atomy. Z tego powodu jest on nazywany „ojcem nanotechnologii”¹. Natomiast określenie „nanotechnologia” pierwszy raz zostało użyte 15 lat później przez japońskiego naukowca Norio Taniguchi, który wykorzystał ten termin do opisanie inżynierii materiałowej na poziomie atomowym^{1,2}. Złoty okres tej dziedziny nauki rozpoczął się niedługo później w latach osiemdziesiątych, wraz z odkryciem fullerenu przez H. Kroto, R. Curl i R. Smiley oraz nanorurek węglowych przez S. Iijima,² co zainicjowało niezwykle prężny rozwój nanotechnologii i jej szerokie spektrum zastosowań nie tylko w medycynie, ale i przemyśle spożywczym, kosmetycznym czy motoryzacyjnym¹.

Nanotechnologia z definicji jest nauką interdyscyplinarną, wykorzystującą zagadnienia chemiczne, fizyczne i informatyczne,³ w celu tworzenia obiektów w skali 1-100 nm oraz manipulacji pojedynczymi atomami i cząsteczkami jako elementami budulcowymi⁴. Obejmuje to także metody mające na celu miniaturyzację istniejących struktur i systemów do skali nanometrowej w celu zróżnicowania ich właściwości, takich jak przewodnictwo elektryczne, reaktywność chemiczna, magnetyzm, zdolności optyczne,⁵ oraz właściwości biologiczne⁶.



Rycina 1. Na rycinie przedstawiono przykładowe obiekty na skali od 1 m do 1 nm³

Co ważne, taka minimalizacja obiektów prowadzi do zmian stosunku liczby atomów lub jonów powierzchni do liczby atomów budujących wnętrze

cząsteczki, czyli dochodzi do zwiększenia pola powierzchni właściwej. Zwiększenie tego parametru wpływa na naprężenia i spójność nanosieci, co skutkuje tym, że otrzymane nanostruktury wykazują często zupełnie nowe właściwości fizykochemiczne względem swoich makroskopowych i mikroskopowych odpowiedników³. Ta ogromna gama możliwości operowania w skali jednej miliardowej metra umożliwiła naukowcom stworzenie szerokiej palety rozmaitych związków określanych wspólnie nanomateriałami,⁷ które posiadają następujące właściwości, niezwykle ważne w przypadku ich zastosowania w medycynie:

- Twardość
- Plastyczność
- Właściwości ślizgowe
- Wysokie zdolności adsorpcyjne i absorpcyjne
- Hydrofilność
- Biokompatybilność
- Niepodleganie prawom fizyki kwantowej i fizyki klasycznej
- Duże pole powierzchni właściwej^{2,3}.

Chcąc podsumować i usystematyzować wiedzę na temat wykorzystania owoców techniki, jakimi są nanomateriały, stworzyliśmy niniejszą pracę przeglądową. Naszym celem było opisanie wybranych, najważniejszych nanocząsteczek wykorzystywanych obecnie w medycynie, szczególnie uwzględniając ich strukturę, właściwości i wynikające z tego możliwe zastosowania. Informacje zamieszczone w niniejszej pracy pochodzą z baz Pubmed, Google Scholar i Scopus. W tym celu wykorzystaliśmy łącznie 115 artykułów naukowych oraz rozdziałów z literatury specjalistycznej, która swym zakresem obejmuje zagadnienia z dziedziny nanotechnologii, fizyki i nanomedycyny. Uwzględniliśmy prace opublikowane w języku polskim i angielskim w latach 2000-2022. Prace opublikowane przed rokiem 2000 zostały wykorzystane do nakreślenia zarysu historycznego oraz opisu dalej obowiązujących zagadnień teoretycznych z dziedziny fizyki.

2. Podział nanomateriałów

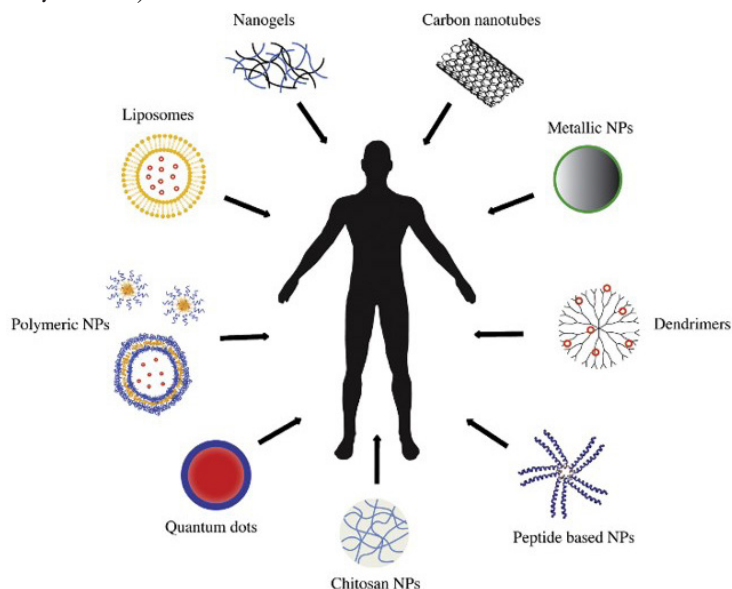
Nanomateriały, czyli cząsteczki, które w co najmniej jednym wymiarze są mniejsze niż 100 nm,⁸ mogą być różnicowane bazując na wielu kryteriach. Głównie jednak wyróżnia się pięć następujących: pochodzenie,²

morfologia, stan skupienia, wymiarowość i skład chemiczny⁹. Ze względu na ich pochodzenie wyróżniamy trzy podstawowe grupy:

- Nanocząsteczki naturalne, czyli powstające w wyniku naturalnych procesów parowania, erozji gleb, utleniania minerałów lub procesów termicznych np.: wybuchy wulkanów.
- Nanocząsteczki antropogeniczne, czyli powstające jako skutek uboczny działalności człowieka podczas obróbki mechanicznej materiałów, spalania węgla kamiennego, spawania czy wulkanizacji gumy.
- Nanocząsteczki projektowane, na których głównie skupimy się w poniższym przeglądzie. Są to cząsteczki zaprojektowane celowo przez człowieka mające pełnić określone funkcje^{2,3}.

W przypadku podziału morfologicznego jego głównymi założeniami jest klasyfikacja cząsteczek ze względu na ich płaskość, kulistość, symetrię, gęstość i proporcje tych składowych, czyli prościej mówiąc ich kształt, który warunkuje ich zdolności interakcji i reaktywności z lokalnym środowiskiem, czyli też organizmem. W tej klasyfikacji wyróżniamy nanosześciany, nanohelisy, nanozygzaki, nanopłytki, nanohaczyki, nanopręty i nanogwiazdy^{9,10}.

Podział nanomateriałów zgodnie z ich stanem skupienia jest silnie powiązany z właściwościami chemicznymi i elektromagnetycznymi, umożliwiając ich pogrupowanie na związki w postaci rozproszonej, zawiesiny, koloidu lub zaglomerowanej.



Rycina 2. Na rycinie przedstawiono wybrane, najważniejsze grupy nanomateriałów wykorzystywanych w medycynie jako systemy nanośnikowe¹¹

Z kolei klasyfikacja na podstawie składu chemicznego wyróżnia nanokompozyty oraz nanocząsteczki jednoskładnikowe,⁹ z których będziemy mogli wymienić związki takie jak kropki kwantowe, nanocząsteczki magnetyczne, metaliczne lub polimerowe, fulereny, nanorurki węglowe, dendrymery, nanośniki lipidowe czy nanożele^{11,12}. W niniejszym przeglądzie opiszemy wykorzystywane nanomateriały zgodnie z tym podziałem.

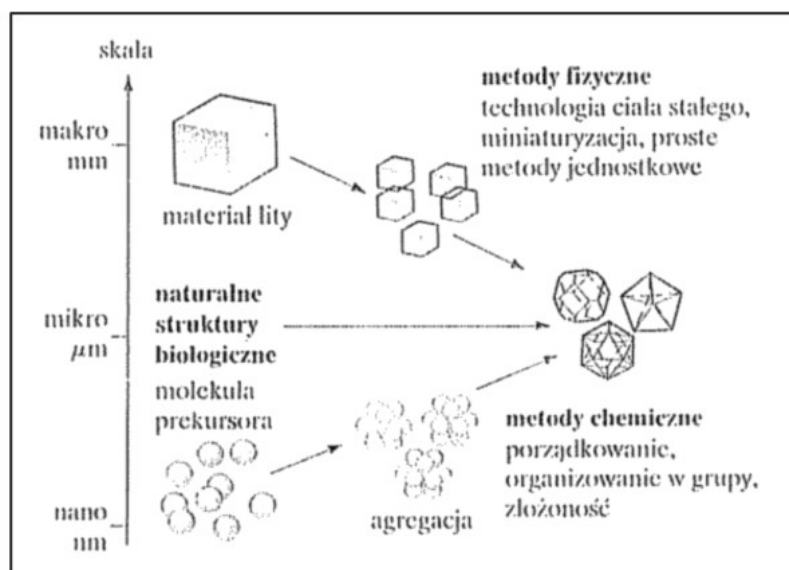
Ostatnią i jedną z najczęściej stosowanych metod podziału nanocząsteczek jest ich wymiarowość w nanoskali, która bazuje na tym, że tworzone w nanotechnologii materiały mogą być miniaturyzowane w trzech różnych wymiarach, którymi są odpowiednio długość, szerokość i wysokość. Dzięki temu utworzono cztery podstawowe grupy, gdzie cząsteczki są klasyfikowane poprzez liczbę wymiarów, w których przekraczają rozmiar nanometrowy tj. powyżej 100 nm. Wyróżniamy więc:

- Zerowymiarowe (0D) – w tym przypadku uzyskane nanocząsteczki w żadnym z trzech wymiarów nie przekraczają rozmiarów nanoskali, czyli ich długość, szerokość i wysokość wynosi poniżej 100 nm. Przykładem tych cząsteczek są kropki kwantowe.
- Jednowymiarowe (1D) – ta grupa cząsteczek posiada dwa prostopadłe względem siebie wymiary mieszczące się w zakresie nanoskali oraz jeden wymiar przekraczający wymiary nanoskali. Do tej grupy należą nanowłókna czy nanopręty.
- Dwuwymiarowe (2D) – związki tej grupy posiadają zaledwie jeden wymiar w nanoskali, podczas gdy dwa pozostałe prostopadłe względem siebie przekraczają rozmiar 100 nm. W tej grupie znajdują się wszelkie nanofilmy, nanowarstwy czy nanopłytki.
- Trójwymiarowe (3D) – materiał w każdym wymiarze przekracza skalę nanometrową, czyli w każdym kierunku przekracza 100 nm. Jest on, natomiast zbudowany z licznych połączonych ze sobą podjednostek, których rozmiary mieszczą się w nanoskali. Należą do nich nanorurki węglowe, nanocząsteczki polimerowe czy fulereny^{3,8,9}.

3. Uzyskiwanie i biosynteza nanomateriałów

Ilość obecnie wykorzystywanych metod w procesach syntezy nanomateriałów jest olbrzymia i odpowiednio wyselekcjonowana w zależności od docelowo pożądanych nanocząsteczek (*ang. nanoparticles* – NP). Metody te jednak da się sklasyfikować w dwie najważniejsze grupy, którymi są odpowiednio

metody *bottom-up*, czyli budowa cząsteczki atom po atomie, oraz metody *top-down*, w których redukujemy wymiary materiału makroskopowego i rozdrabniamy cząsteczki³. Metody *bottom-up* opierają się na modyfikacji wielkości budulca, którym są atomy lub molekuły, co umożliwia kalibrowanie i przekształcanie cech powierzchni oraz wnętrza tych struktur, tworząc warunki prowadzące do ich sparowania w docelowy nanomateriał. Prostszy sposobem syntezy nanomateriałów są metody *top-down*, w których materiał makroskopowy poddajemy fragmentacji do skali nanometrowej lub miniaturyzujemy procesy tworzenia ciał stałych. Obie metody można określić wspólnie inżynierią mikrostrukturalną. Ponadto możemy też wyróżnić hipotetyczną grupę procesów biologicznych, które pod względem przestrzennym są zjawiskami pośrednimi między wyżej wymienionymi sposobami syntezy¹².



Rycina 3. Na rycinie przedstawiono schematycznie metody *bottom-up* oraz *top-down* i ich relację z procesami biologicznymi¹²

3.1. Metody *top-down*

Metody *top-down* zawierają w praktyce wszystkie metody przetwarzania ciał stałych, do których zalicza się procesy litograficzne, konwencjonalną obróbkę materiałów i wysokoenergetyczne mielenie, które w kontrolowany sposób rozdrabniają materiał, dążąc do uzyskania końcowego rozmiaru w skali 1-100 nm^{3,12}. Proces ten wiąże się z pewnymi niedoskonałościami, z których najbardziej znaczącymi są nieregularności struktury powierzchni

nanocząsteczek. Techniki takie jak procesy litograficzne mogą prowadzić do uszkodzeń krystalograficznych powierzchni nanomateriałów w trakcie ich syntezy, w wyniku czego powierzchnia traci gładkość, co wpływa na właściwości takie jak przewodnictwo, elastyczność czy zdolności absorpcyjne. Jednak mimo wyżej wymienionych skutków i innych defektów wynikających ze stosowania metod *top-down*, są one głównymi metodami używanymi w syntezie i produkcji nanomateriałów¹³.

3.1.1. Litografia

Litografia jest procesem o bardzo szerokim spektrum modyfikacji, gdzie da się wyróżnić takie metody jak fotolitografię, litografię optyczną z przesunięciem fazowym, litografię wykorzystującą promieniowanie X, litografię wykorzystującą wiązkę elektronową, wiązkę skupioną jonową lub wiązkę neutralnych atomów oraz litografię miękką¹².

Proces początkowo polega na pokryciu podłoża substancją ochronną, na którą nanosi się kształt, jaki ma przybrać tworzona nanostruktura, np.: w fotolitografii, gdzie najczęściej wykorzystuje się promienie UV, substancją ochronną jest tzw.: „fotomaska”. Jest ona filtrem nieprzepuszczalnym dla UV, z naniesionym kształtem pożądanej nanostruktury, który stanowi przestrzeń, gdzie promienie są w stanie się przebić i zadziałać na podłoże^{12,14}. Drugim etapem jest wpływ promieniowania na rezyst, czyli zmodyfikowaną emulsję pokrywającą podłoże, który może być „pozytywny” lub „negatywny”. Pod wpływem promieniowania rezyst ulega procesom zmieniającym jego rozpuszczalność. Emulsja pozytywna zwiększa swoją rozpuszczalność względem obszarów nie-naświetlonych, dlatego po nałożeniu odpowiednich związków trawiących tylko ona zostaje rozłożona a następnie usunięta. Odwrotna natomiast sytuacja zachodzi w przypadku rezystu negatywnego. Pozostały rezyst jest następnie wykorzystywany jako maska w następnych procesach trawienia lub szablon do osadzania się budulca NP docelowej¹².

3.1.2. Mielenie wysokoenergetyczne

Jest to metoda polegająca na plastycznym odkształcaniu struktur w warunkach dużej szybkości odkształcania i w warunkach ścinania, wykorzystywana głównie na skalę przemysłową w obróbce metali do nanocząsteczek. Polega na rozdrobnieniu gruboziarnistego materiału pomiędzy dwoma obracającymi się żarnami w warunkach beztlenowych, zapobiegających utlenianiu¹².

3.1.3. Konwencjonalna obróbka materiałów

Metoda jest wykorzystywana jako uzupełnienie litografii i opiera się na wykorzystaniu wysokoenergetycznych wiązek laserowych i zogniskowanych wiązek jonów (*ang. focused ion beam* – FIB). Metoda ta umożliwia modyfikację uzyskanych nanomateriałów poprzez usuwanie z ich powierzchni pojedynczych atomów za pomocą zogniskowanej rozpylonej wiązki jonów, pochodzących z ciekłego galu. Konwencjonalna obróbka przy użyciu FIB umożliwia także osadzanie nowych materiałów na powierzchni otrzymanych nanostruktur^{12,15}. Metoda ta jest też wykorzystywana jako samodzielne narzędzie tworzenia nanostruktur, wykazując przewagę nad litografią w modelowaniu struktur dwuwymiarowych i trójwymiarowych, dzięki zdolności operowania na materiałach z zakrzywionymi i pochyłymi ścianami oraz większym bezpieczeństwie przy modyfikowaniu nanomembran o naturalnie kruchej strukturze¹⁵.

3.2. Metody *bottom-up*

Metody *bottom-up* opierają się na konstruowaniu NP od podstawowych budulców, wykorzystując, w tym celu atomy, molekuly, jony czy klastry¹³. Metoda ta zapewnia wyjątkowo szeroką gamę technik takie jak osadzanie elektrolityczne, metody zol-żel, metody koloidalne, osadzanie z fazy gazowej, osadzanie wspomagane plazmą, metody wykorzystujące fazę ciekłą, czy epitaksję molekularną³. Techniki te pod względem działania można zaklasyfikować do jednego z dwóch typów procesów metody *bottom-up* – syntezy chemicznej bądź kontrolowanego osadzania i wzrostu materiałów^{12,13}. Przewagą tej metody jest wytwarzanie materiałów o bardziej jednorodnej strukturze chemicznej, mniejszych defektach powierzchni i większym uporządkowaniu¹³.

3.3. Wykorzystanie organizmów żywych

W dobie XXI wieku jednym z najważniejszych tematów życia społecznego stała się ekologia oraz przyjazne dla środowiska metody uzyskiwania surowców, które zapoczątkowały prężny rozwój nowego podejścia do produkcji nanomateriałów. Metody chemiczne zarówno odgórne, jak i oddolne charakteryzują się niskimi kosztami oraz wysoką wydajnością, jednak ubocznymi skutkami tych procesów jest wysoka toksyczność produktów ubocznych oraz materiałów końcowych, co komplikuje ich wykorzystanie w celach medycznych i wpływa negatywnie na środowisko^{16,17}. Z pomocą przyszły mikroorganizmy, zwłaszcza

bytujące w środowiskach o dużych stężeniach metalu, które w wyniku ewolucji wykształciły metody redukowania jego toksyczności i tworzenia nanocząsteczek¹⁷. Obecnie wykorzystuje się takie organizmy jak grzyby, bakterie, wirusy czy rośliny oraz produkowane przez nie enzymy¹⁸.

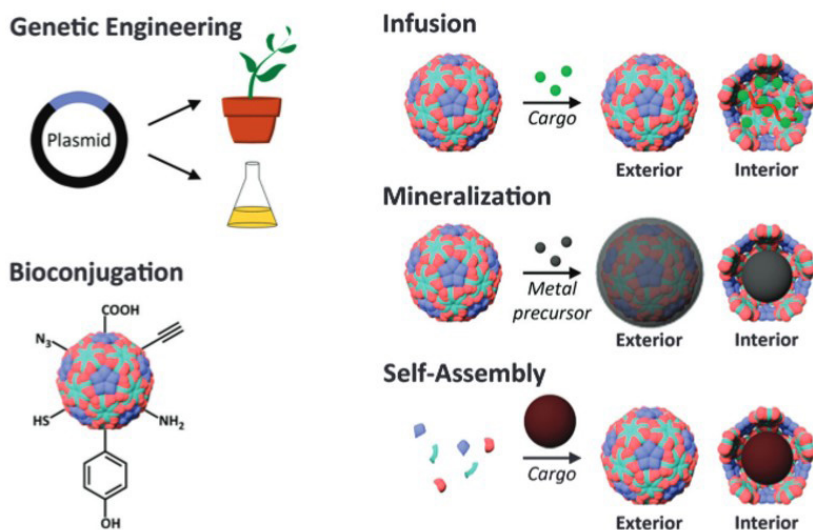
3.3.1. Wykorzystanie wirusów

Wirusy, czyli obligatoryjne pasożyty molekularne, mają wyjątkowe właściwości zarówno morfologiczne, jak i czynnościowe zapewniające im uprzywilejowaną pozycję w dziedzinie nanotechnologii. Pełnoprawna cząsteczka wirusa zdolna do infekcji komórek to wirion, składający się z kwasu nukleinowego oraz osłonki białkowej tj. kapsyd,¹⁶ którego struktura przypomina wytrzymałą klatkę białkową w skali nanometrowej z wyjątkowo dobrze zdefiniowaną geometrią i jednorodnością budowy¹⁹. Cecha ta zapewnia szerokie wykorzystanie wirusów jako szablonów i rusztowań w syntezie nanocząsteczek, z czego najczęściej wykorzystywane są wirusy mozaikowatości tytoniu,^{16,20} wirusy typu *Cowpea*,¹⁹⁻²¹ oraz bakteriofagi M2¹⁹.

Wirusy charakteryzuje także łatwość ich namnażania i produkcji, dlatego typowe preparaty wymagają zaledwie kilku godzin pracy, zapewniając znaczne ilości uzyskanych kapsydów²². Głównym sposobem jest wykorzystywanie systemów namnażania *in vivo* w komórkach bakterii, drożdży, roślin i insektów, przy czym trwają ciągłe badania nad systemami bezkomórkowego namnażania *in vitro*²¹. Natomiast z punktu widzenia chemicznego najbardziej cenionymi cechami wirusów są:

- Wysoka amorficzność, czyli uporządkowanie struktury atomowej, względem uzyskiwanych w laboratorium struktur często bezpostaciowych,
- Doskonała monodispersyjność, czyli jednolitość kształtu i rozmiaru w obrębie danego rodzaju wirusa,
- Olbrzymie zróżnicowanie kształtów o różnych właściwościach, dlatego każdy rodzaj wirusa stanowi unikalne rusztowanie dla nanocząsteczek,
- Możliwość kontrolowania składu dzięki manipulacji genetycznej,
- Obecność ograniczonych przestrzeni wewnętrznych, umożliwiające pakowanie ładunków np.: leków,
- Znacznie stabilniejsze wobec zmian temperatury i pH, niż standardowe białka²².

Otrzymane różnymi metodami namnażania wirusy następnie poddaje się odpowiednim modyfikacjom z wykorzystaniem technik inżynierii genetycznej, biokonjugacji, infuzji, biomineralizacji i samoorganizacji²¹. Wirusy, które naturalnie stanowią swojego rodzaju „pojemniki” ze zdolnością do celowania w poszczególne komórki, przekształcone w nanocząsteczki mogą być wykorzystywane w przyszłości do celowanej dystrybucji leków, czy ukierunkowanego dostarczania środków kontrastowych. Obecnie jednak są głównie wykorzystywane w szczepionkach i terapiach genowych^{19,22}.



Rycina 4. Na rycinie przedstawiono w uproszczeniu popularne techniki zewnętrznej i wewnętrznej modyfikacji rusztowań wirusowych²¹

3.3.2. Wykorzystanie bakterii

Bakterie, czyli jednokomórkowe organizmy prokariotyczne, są drugą grupą mikroorganizmów szczególnie braną pod uwagę w procesie syntezy i produkcji nanocząsteczek metalicznych^{17,20}. Zdecydowały o tym takie ich cechy jak powszechność w przyrodzie, przystosowanie do ekstremalnych warunków,¹⁷ zdolności do redukcji jonów metali,¹⁶ oraz niezwykła łatwość manipulacji²⁰. Obecny przedział wykorzystywanych w syntezie nanocząsteczek gatunków bakterii jest olbrzymi i można wymienić w nim takie bakterie jak *Escherichia coli*, bakterie mlekowe,¹⁷ bakterie z rodzaju *Rhodococcus*,¹⁶ *Klebsiella* czy *Pseudomonas*²³.

Mechanizmy baterii prowadzące do wytwarzania nanocząsteczek, można przydzielić do jednej z dwóch szlaków syntezy - produkcji zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej,¹⁶ przy czym szlaki te zachodzące różnymi drogami, mają jedną wspólną cechę, którą jest mechanizm redukcji jonów metali. W szlakach zewnątrzkomórkowych jony metali są wiązane na powierzchni komórek i tam redukowane, z kolei w syntezie wewnątrzkomórkowej jony są transportowane do wnętrza komórki, gdzie w wyniku redukcji są wytrącane w postaci nanocząsteczek²⁴. Mechanizmy te, które w toku ewolucji zapewniły bakteriom adaptację do ekstremalnych warunków środowiska,¹⁷ umożliwiają uzyskiwanie następujących nanocząsteczek:

- Nanocząsteczki srebra (AgNP)
- Nanocząsteczki złota (AuNP)
- Nanocząsteczki żelaza (FeNP)
- Nanocząsteczki platyny (PtNP)
- Kropki kwantowe palladu i miedzi²³⁻²⁵.

3.3.3. Wykorzystanie grzybów

Grzyby są kolejną grupą organizmów cechującą się niezwykłym potencjałem do syntezy nanocząsteczek, wynikającym z ich znaczącej przewagi nad bakteriami i wirusami, zarówno w kwestii biologicznej, jak i metodyce uzyskiwania z nich produktów docelowych. Gatunkami grzybów wykorzystywanymi w syntezie materiałów w skali nanometrowej są m.in.: *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*, *Colletotrichum* oraz *Verticilium*, które umożliwiają uzyskiwanie nanocząsteczek srebra, złota, siarczków metali ciężkich czy złożonych związków kompleksowych tytanu, bizmutu i cyrkonu^{17,24}. Zaletami wykorzystania grzybów w produkcji NP są:

- Łatwość izolacji i hodowli – grzyby mają proste wymagania żywieniowe, co daje łatwość ich wykorzystania na skalę przemysłową,²⁶ tworząc tzw.: „nanofabryki”²⁷.
- Wysoka zawartość enzymów wydzielanych na zewnątrz komórki – synteza może odbywać się głównie zewnątrzkomórkowo, co znacznie ułatwia dalsze uzyskiwanie, przetwarzanie i obsługę biomasy^{24,26}. Ilość wydzielanych enzymów oraz białek jest ponadto znacznie wyższa niż u innych mikroorganizmów, co warunkuje znacznie szybszą produkcję NP nawet względem syntezy chemicznej²⁷.

- Duża tolerancja na manipulację – zapewnia możliwość modyfikowania warunków życia grzybów i uzyskiwanie nanocząsteczek o zmiennej wielkości i kształtach²⁶.

3.3.4. Wykorzystanie roślin

Komórki roślinne są względnie nowym podejściem w „eko-syntezie” nanomateriałów, oferującym szeroko pojęte nowe możliwości i ciekawą konkurencję względem pozostałych mikroorganizmów. W skali produkcyjnej wykorzystuje się głównie ekstrakty z liści lub suszone rośliny, co pozwala uporać się z problemem sezonowości i powtarzalności składu²⁴. Sama jednak dziedzina uzyskiwania nanomateriałów z roślin („fitonanotechnologia”) jest względnie świeżą i ciągle badaną drogą uzyskiwania NP, cechującą się zaletami takimi jak biokompatybilność, skalowalność, szeroki dostęp, niska toksyczność otrzymanych produktów, co jest szczególnie ważne w medycynie,²⁸ oraz duże możliwości modyfikowania morfologii uzyskiwanych NP. Metoda ta jednak wykazuje pewne wady takie jak trudności ekstrakcyjne NP z biomasy, niska opłacalność przemysłowa i zróżnicowanie zdolności bio redukcyjnych w odrębnych częściach tego samego systemu roślinnego²⁹.

4. Reakcja nanomateriałów z tkanką biologiczną

Nanocząsteczki zaprojektowane do celów biomedycznych są zazwyczaj dużo mniejsze, niż docelowe jednostki biologiczne, co zapewnia im wyjątkowe zdolności interakcji z błoną komórkową oraz związkami zewnątrz- i wewnątrzkomórkowymi³⁰. Z punktu widzenia biomedycznego najważniejsze jest reagowanie i wzajemna interakcja nanocząsteczek z dwuwarstwami lipidowymi, gdyż ich działanie zarówno w dostarczaniu leków, bioobrazowaniu i nowoczesnych terapiach opiera się na ich połączeniu z błoną komórkową,³¹ co warunkuje dystrybucję i rozmieszczenie w organizmie, a tym samym uzyskany efekt³⁰.

4.1. Interakcja z dwuwarstwą lipidową

Integracja z błoną lipidową zależy od wielu właściwości samego nanomateriału takich jak funkcje powierzchni, wielkość, kształt, zdolności do agregacji czy tworzenie korony biomolekularnej³⁰. Integracja ta opiera się głównie na transporcie do wnętrza docelowych komórek z wykorzystaniem dyfuzji,

transportu ułatwionego oraz endocytozy, w której wyróżniamy pinocytozę i fagocytozę. Istnieją także materiały np.: dendrymery czy kropki kwantowe,³² które penetrując błony, prowadzą do uszkodzenia ich integralności i tym samym toksyczności. W takiej sytuacji stosuje się alternatywne podejście z wykorzystaniem chlorochiny, mikrowstrzyknień dokomórkowych, ekstrapolacji oraz sprzężenia ze związkami fuzogennymi lub naturalnymi chaperonami penetrującymi błony³³.

Głównym mechanizmem internalizacji jest endocytoza, gdzie płaszcz błony plazmatycznej tworzy endosom wkoło NP a następnie uwalnia je wewnątrzkomórkowo. Efektywność tego procesu jest zależna od właściwości fizycznych, funkcjonalności chemicznej nanomateriałów oraz rodzaju komórki docelowej,³³ określanych jako „interfejs bio-nano”, czyli relacja między syntetycznymi nanocząsteczkami a naturalnymi układami biologicznymi³⁰.

W przypadku właściwości fizycznych najważniejszą rolę gra kształt, rozmiar, sztywność materiału, a także charakter powierzchni. Na podstawie badań udowodniono, że najkorzystniejszym rozmiarem nanocząsteczek jest zakres około 50 nm, wymagający najkrótszego okresu owijania błony i następcej internalizacji^{32,33}. Rozmiar ten jest zbliżony do rozmiarów standardowych klastrów receptorowych na powierzchni błon, dzięki czemu nie wymaga rekrutacji innych obszarów klastrowych. Ponadto procesy endocytozy nasilają cechy, takie jak hydrofobowość, sferyczność, charakter kationowy i wypukłości błonowe ułatwiające zapoczątkowanie zmian błonowych,³⁰ z kolei mała sztywność utrudnia fagocytozę m.in.: przez makrofagi³³.

Funkcjonalność chemiczna jest drugą składową interfejsu i wynika z dużej powierzchni właściwej nanostruktur. Prowadzi do tego, że po wprowadzeniu nanomateriału do określonego płynu biologicznego zacznie on reagować, ze znajdującymi się w nim białkami, tworząc tzw.: „koronę białkową”,^{30,34} która znacząco może zmieniać właściwości poddawanego NP względem wyjściowych „nagich nanocząsteczek”. Może wywołać agregację nanocząsteczek, zmiany ładunku lub prowadzić do wiązania nieswoistego z elementami macierzy międzykomórkowej^{32,34}. Powstawanie owej korony jest na ogół niekorzystne, dlatego stosuje się różne metody modyfikacji błon, z czego najważniejsze jest wykorzystywanie samoorganizujących się monowarstw (ang. *self-assembling monolayer* – SAM), prowadzących do sfunkcjonalizowania NP w płynach biologicznych³⁰. Przykład stanowi pegylowanie, czyli pokrywanie powierzchni nanomateriału glikolem polietylowym hamującym przyjmowanie białek i agregację między NP,³² lub różnymi grupami funkcyjnymi umożliwiającymi wybiórcze wiązanie określonych składników osocza³⁰.

Interakcje między nanomateriałami a błonami komórkowymi są też zależne od typu komórek i tkanek, w których mają one miejsce. Jako przykład można podać zastosowanie nanomateriałów węglowych wobec makrofagów płucnych i neuronalnych, gdzie te pierwsze wykazały znacznie większą wrażliwość na dane NP poprzez swoją znacznie większą aktywność generowania reaktywnych form tlenu³³.

4.2. Toksyczność nanocząsteczek

Podstawą zdolności nanomateriałów do wykorzystania w medycynie jest ich możliwie jak najniższa toksyczność, która stała się coraz popularniejszym zagadnieniem wielu prac naukowych. Jest ona uwarunkowana ogromem czynników fizycznych i chemicznych zarówno „nagich nanocząsteczek”, jak i sfunkcjonalizowanymi NP pokrytymi różnymi koniugatami, które dodatkowo mogą wpływać na interferencję z białkami, kwasami nukleinowymi czy enzymami^{9,35}. Równie ważnym determinantem toksyczności jest kinetyka nanomateriałów, a zwłaszcza ich procesy biodegradacji i powstające metabolity, które mogą kumulować się w komórkach i prowadzić do zmian wewnątrzkomórkowych³⁵. Toksyczność nie jest jednak zjawiskiem wyłącznie negatywnym, gdyż odpowiednio ukierunkowana może stanowić element terapii przeciwnowotworowych. Przykładowo nanocząsteczki toksyczne wobec mechanizmów transkrypcji takie jak tlenek grafenu skutecznie prowadzą do apoptozy komórek raka okrężnicy CT26³⁶.

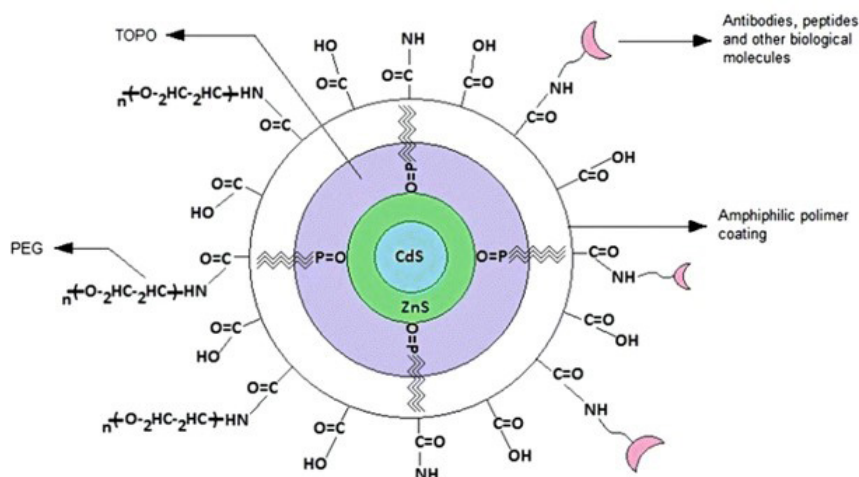
5. Klasyfikacja nanocząsteczek

5.1. Kropki kwantowe

Kropki kwantowe (ang. *quantum dots* – QD) są najbardziej klasycznym przedstawicielem nanomateriałów zerowymiarowych, uzyskiwanymi drogami „top-down” i „bottom-up”,³⁷ przy czym ze względu na swoją specyfikę wymiarową konieczne jest wykorzystywanie bardziej wyrafinowanych metod syntezy, opartych na wytrawianiu, interdyfuzji czy modulacji elektrycznej w obrębie studni kwantowej, a także selektywnego wzrostu, samoorganizacji kropek czy krystalizacji³⁸. Następnie QD poddaje się funkcjonalizacji i modyfikacji ich wrażliwej powierzchni,³⁷ co umożliwia ochronę przed utlenianiem, rekombinacją i pasywacją³⁹. Głównymi metodami owej funkcjonalizacji jest solubilizacja i biokoniugacja,⁴⁰ które warunkują uzyskanie hydrofilności, czyli stabilności

w środowisku wodnym, zablokowanie agregacji,⁴¹ biokompatybilność, brak immunogenności, zdolność biokoniugacji ze strukturami docelowymi i zachowanie natywnych właściwości cząsteczki⁴⁰.

Z definicji QD są fluorescencyjnymi nanokryształami o rozmiarach 2-10 nm w każdym wymiarze, o cechach pośrednich między półprzewodnikami a cząsteczkami kwantowymi^{41,42}. Mogą występować jako sam rdzeń, układ rdzeń/otoczka, układy wielowarstwowe lub multikropki kwantowe,⁴³⁻⁴⁴ których charakterystyczną cechą jest efekt ograniczenia kwantowego, przekładający się na ich unikalne właściwości absorpcyjne i emisyjne⁴². Szczególnie pożądaną właściwością jest ich niezwykle wydajna i stabilna fluorescencja, ze swobodną możliwością jej „przesuwania” od obszaru widzialnego do bliskiej podczerwieni,³⁷ przez co znacznie przewyższa barwniki czy białka fluorescencyjne o symetrycznym i wąskim zakresie widmowym⁴¹. Dotychczas uzyskiwane QD budowane są z pierwiastków grup III-IV, II-VI lub IV-VI układu okresowego,⁴³ co warunkuje ich największą wadę, jaką jest toksyczność³⁷.



Rycina 5. Na rycinie przedstawiono schemat kropki kwantowej z centralnie położonym rdzeniem (kolor niebieski), okrywającą go otoczką (kolor zielony), oraz leżącymi obwodowo zróżnicowanymi molekułami, które odpowiadają za funkcjonalizację kropki kwantowej³⁹

Właściwości fluorescencyjne QD przekładają się bezpośrednio na ich wykorzystanie w biologii molekularnej i medycynie. W przypadku biologii molekularnej wykorzystanie sfunkcjonalizowanych kropek kwantowych umożliwia badania błon lipidowych i procesów wewnątrzkomórkowych na żywych i utrwalonych komórkach^{43,45}. Daje to możliwość analizy patofizjologii zmian chorobowych na poziomie komórkowym,⁴² ocenę zmian ekspresji receptorów

w komórkach nowotworowych a nawet określenie fenotypu komórki^{39,45}. Prowadzi się także intensywne badania nad nanosensoremami w obrazowaniu *in vivo* z wykorzystaniem QD,^{43,45} gdzie osiągnięto pierwsze sukcesy m.in.: w obrazowaniu glejaka hipodermicznego, nowotworów prostaty czy wątrobiaka u myszy³⁹. Oprócz funkcji diagnostycznej kropki kwantowe mogą także wykazywać funkcję terapeutyczną, dlatego są zaliczane do związków teranostycznych, czyli prościej bifunkcyjnych³⁹. W terapii nowotworów z użyciem QD testuje się dwa główne podejścia. Pierwsze opiera się na terapii fotodynamicznej, gdzie guz naświetla się przy użyciu fluorescencyjnego rezonansowego transferu energii, co aktywuje fotouczulacz zbudowany z QD i związku cytotoksycznego, pozwalając na działanie ograniczone punktowo do lokalizacji nowotworu^{37,41}. Drugie podejście opiera się na wykorzystaniu QD jako nanośnika, co udało się osiągnąć Wang i innym, tworząc kropki grafenowe sprzężone z doksorubicyną^{39,43}. Interesującym przykładem są też kropki węglowe sprzężone z oksaliplatyną wykazujące aktywność przeciwnowotworową i fluorescencyjną, dzięki czemu spełniają założenia związku teranostycznego⁴³. Dostrzega się także możliwości wykorzystania QD w wykrywaniu markerów zawału serca, leczeniu AIDS,⁴⁰ identyfikacji chorób poprzez molekularne „odcinki palców”⁴², znakowaniu DNA, oznaczaniu substancji toksycznych w zatruciach, oraz monitorowaniu migracji i rozwoju drobnoustrojów w organizmie⁴⁶.

5.2. Fulereny i nanorurki węglowe

Fulereny są, zaraz po diamencie, graficie i grafenie, kolejnymi odmianami alotropowymi węgla, z kolei nanorurki węglowe stanowią odmianę fulerenów⁴⁷. Uzyskiwane są standardowymi metodami opartymi głównie na addycji, po czym poddawane są odpowiedniej funkcjonalizacji⁴⁸. Ta jest oparta głównie na zmianie charakteru hydrofobowego uzyskanych cząsteczek na charakter hydrofilowy, by zapobiec ich niekontrolowanej agregacji w ustroju człowieka^{49,50}. Funkcjonalizację można podzielić na kowalencyjne tworzenie wiązań chemicznych i niekowalencyjną fizjoadsorbpcję, czego efektem są nanocząsteczki rozpuszczalne w wodzie o określonych właściwościach⁵⁰.

Fulereny są sferycznymi, kulistymi lub elipsoidalnymi strukturami, zbudowanymi z pierścieni pięciu lub sześciu atomów węgla⁵¹. Najtrwalszy fuleren zawiera 60 atomów węgla i ma strukturę przypominającą piłkę,⁴⁹ przy czym mogą być one zbudowane nawet z 1500 atomów węgla oraz przybierać formy jednowarstwowe, formy wielowarstwowe tzw.: „nanocebulki” oraz mieć specyficzną formę nanorurek węglowych^{50,51}. Owe nanorurki węglowe to szereg

pierścieni benzenowych zwiniętych w strukturę rurową o wysokim współczynniku kształtu, szerokości 0,4 - 2 nm i długości dochodzącej do kilku mikrometrów⁵². Wspólną cechą fulerenów jest brak wypełnienia ich cząsteczek, lecz odmiennie struktury warunkują pewne różnice między powyższymi związkami. Fulereny charakteryzują się wysoką zdolnością do agregacji ze względu na swój hydrofobowy charakter, znaczną wytrzymałością i trwałością oraz wysoką reaktywnością chemiczną^{49,53}. Nanorurki węglowe natomiast wykazują znaczną fluorescencję,⁴⁶ oraz charakteryzują się dużą zmiennością właściwości ze względu na ich zdolności zawijania i modyfikacji kształtu⁵⁰.



Rycina 6. Na rycinie przedstawiono schematycznie przestrzenną strukturę fulerenu C60⁴⁹

Fulereny i nanorurki węglowe są wspólnie rozpatrywane jako niezbędne narzędzia w terapiach przeciwwirusowych, przeciwnowotworowych oraz jako związki protekcyjne, przy czym posiadają również własne, możliwe zastosowania. Wspólnie nanocząsteczki te ze względu na ich wysoką reaktywność chemiczną określa się mianem „gąbek wolnorodnikowych”, gdyż wykazują niezwykłą zdolność wiązania reaktywnych form tlenu^{53,54}. W połączeniu z ich zdolnością do penetracji bariery krew-mózg, budzą szerokie zainteresowanie jako leki neuroprotekcyjne, hamujące progresję uszkodzeń w przebiegu choroby Parkinsona, Alzheimerera czy stwardnienia zanikowego bocznego, w których powstają znaczne ilości wolnych rodników^{50,55}. W nowotworach z kolei omawiane cząsteczki są rozpatrywane jako elementy terapii fotodynamicznej, nanoonośniki leków i radioizotopów, stymulatory układu immunologicznego czy związki protekcyjne, redukujące skutki uboczne stosowania leków

przeciwnowotworowych^{46,50,55}. Interesujące jest też wykorzystanie wyżej wymienionych w walce z drobnoustrojami, takimi jak wirus HIV, wirus Ebola czy wieloopornymi rodzajami grzybów i bakterii, poprzez przekształcenie NP w inhibitory enzymów, nośniki leków czy szczepionki^{50,53,55}.

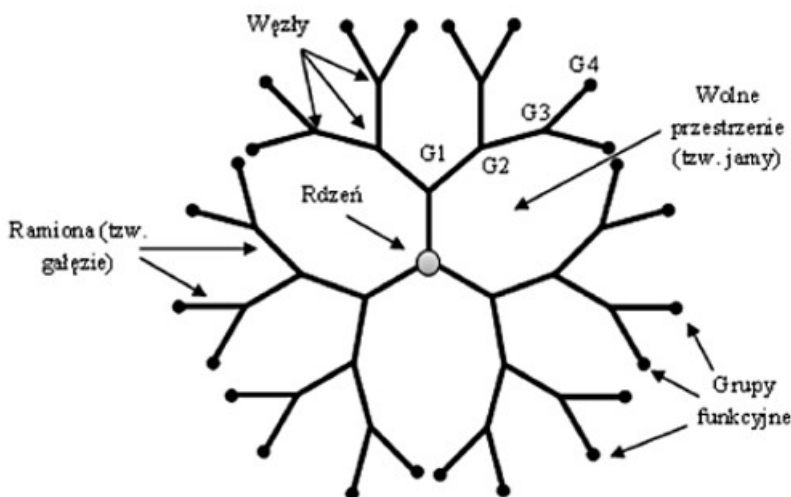
Omawiane nanocząsteczki wykazują też możliwe oddzielne zastosowania. W przypadku samych fulerenów, ich zdolności antyoksydacyjne zapewniają ich szerokie wykorzystanie w radioprotekcji, gdzie potwierdzono ochronny wpływ na DNA, mitochondria i struktury komórkowe poddane napromienianiu^{49,54}. Z kolei, przy możliwości zamykania w ich wnętrzu środków kontrastowych, mogą stanowić świetną alternatywę w obrazowaniu tkanek, dzięki znacznie mniejszej toksyczności, silniejszej mocy sygnału i łatwiejszej dyfuzji^{54,55}. Nanorurki węglowe stanowią natomiast świetny materiał w terapiach genowych jako nośniki materiału DNA do miejsca docelowego, gdzie chronią go przed rozszczepieniem enzymatycznym i interferencją z białkami⁵⁰. Ich zaletą jest wysoka zdolność penetracji, możliwość monitorowania postępów terapii, dzięki właściwościom fluorescencyjnym, zdolność do kontrolowanego czasowo i przestrzennie uwalniania oraz modyfikacji konformacji materiału genetycznego, co umożliwia wysoka elastyczność i możliwość projektowania ich struktury⁵².

5.3 Dendrymery

Dendrymery są rozbudowanymi, symetrycznymi nanocząsteczkami o mocno rozgałęzionej strukturze. Ich uzyskiwanie opiera się na kolejnych etapach reakcji polimeryzacji, prowadząc do tworzenia coraz wyższych generacji polimeru⁵⁶. W procesach ich syntezy stosuje się podejście rozbieżne, czyli budowę od rdzenia o znacznej wydajności i łatwości przeprowadzania, oraz podejście zbieżne, czyli budowę od ramion do wnętrza cząsteczki, zapewniającą wysoką kontrolę i ograniczenie powstawania produktów ubocznych^{57,58}. Obecnie trwają także prace nad procesami syntezy przez samoorganizację monomerów do utworzenia polimerycznego dendrymeru⁵⁹.

Utworzone dendrymery to trójwymiarowe, mocno rozgałęzione struktury polimerowe kształtem przypominające kule^{56,60}. Ich wielofunkcyjne centrum buduje rdzeń, od którego promieniście odchodzą ramiona zwane dendronami,⁵⁶ posiadającymi część środkową z powtarzającymi się elementami tzw.: „iteracjami” oraz część terminalną, zewnętrzną z grupami powierzchniowymi⁶⁰. Między tymi ramionami znajdują się wolne przestrzenie zwane jamami, które stanowią „kieszonki” dla różnych molekuł⁵⁶. Ważny element klasyfikacji

dendrymerów stanowi ich generacja, czyli ilość kolejnych pojedynczych powłok wokół rdzenia,⁶⁰ których maksymalna osiągalna ilość wynosi dziesięć, co wynika z efektu Starbursta, czyli za dużej gęstości powierzchni i hamowania powstawania kolejnych warstw⁶¹. Generacje i możliwość ich modyfikacji warunkują ogrom zróżnicowania właściwości dendrymerów, takich jak zdolności dyfuzyjne i interakcje z układem biologicznym, reaktywność powierzchni, czy izolację mikrośrodowiska jamek i rdzenia od środowiska zewnętrznego co umożliwia m.in.: transport cząsteczek hydrofobowych w środowisku hydrofilowym⁵⁹. Sztandarowymi przykładami dendrymerów są formy poliamidoaminowe (PAMAM),^{59,62} polipropylenoiminowe (PPI),^{61,62} oraz dendryмеры na bazie fosforu⁵⁸.



Rycina 7. Na rycinie przedstawiono schematycznie budowę nanocząsteczki dendrymeru⁵⁶

Powyższe cechy prasują dendryмеры jako niezwykle wydajne nanonośniki, których przewaga wynika z ich zdolności zwiększania przepuszczalności błony, przyłączania wielu różnych substancji do jednej cząsteczki, ochrony leków podczas transportu i zwiększenia ich rozpuszczalności, kontrolowanego uwalniania oraz możliwości minimalizacji dawek i ich „adresowania”^{56,59,63}. Dzięki temu udało się stworzyć nośniki leków, takich jak niklozamid czy ketoprofen sprzężone z PAMAM, zwiększające ich rozpuszczalność, uwalnianie i czas działania^{56,57}. Dendryмеры wykorzystano szczególnie szeroko w onkologii, dzięki możliwości modyfikowania powierzchni i „celowania” cząsteczek w określone komórki,⁵⁹ wykazywaniu efektu EPR, czyli wzmocnionej

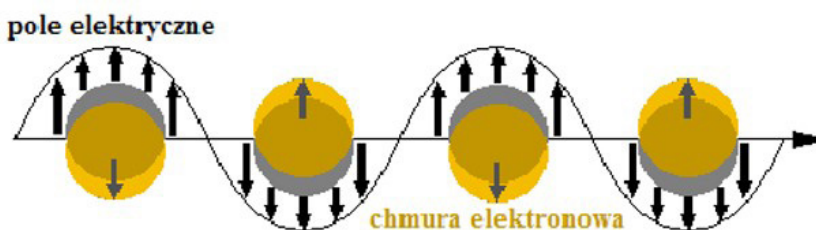
przepuszczalności i retencji w obrębie naczyń krwionośnych guzów,⁶³ zdolności penetrowania bariery krew-mózg,⁵⁸ oraz ograniczania efektów ubocznych cytostatyków⁵⁶. Przykładami takich leków są dendryty PAMAM czy PPI sprzężone z cisplatyną,⁵⁶ metotreksatem czy doksyrubicyną⁵⁹. Ponadto trwają też prace nad wykorzystaniem dendrymerów w terapii fotodynamicznej,⁵⁹ czy w terapiach genowych^{61,62}. Dziedzina diagnostyki klinicznej również znalazła zastosowanie dla omawianych NP, gdzie szczególnie dobre wyniki otrzymano w obrazowaniu MRI, przy wykorzystaniu Gadomeru 17, czyli kompleksu soli gadolinu i dendrymerów lizynowych^{56,61}. Przewagę na standardowymi środkami kontrastowymi zapewnia wysoka jakość obrazowania, brak kumulacji w organizmie,⁵⁶ szybka eliminacja toksycznego gadolinu,⁶¹ oraz zdolność obrazowania nawet małych naczyń ze względu na możliwość spowolnienia dyfuzji do przestrzeni zewnątrznaczyniowej⁵⁹. Badania potencjalnego wykorzystania dendrymerów dotyczą także tworzenia szczepionek, neuroprotekcji,⁵⁶ inżynierii tkankowej,^{62,64} leków bakteriobójczych,⁶¹ nanosensorów,⁵⁷ czy ich wykorzystania w walce z wirusem HIV. W tym ostatnim przypadku firma Starpharma Ltd. opracowała lek o nazwie VivaGel® składający się z dendrymerów polilizynowych, wiążący receptory powierzchni wirusa, chroniąc tym samym przed zakażeniem. Obecnie lek ten znajduje się w III fazie badań klinicznych^{56,61}.

5.4. Nanocząsteczki metaliczne

Nanocząsteczki metali, takich jak złoto, srebro, platyna, miedź, pallad czy tytan, są kolejną grupą nanomateriałów, która charakteryzuje się rozległością zarówno w kwestii zróżnicowania, jak i poświęconym im badaniom oraz pracom naukowym. Wyróżnia się wiele metod syntezy owych NP takie jak fizyczne metody odparowanie-kondensacja i ablacja laserowa;⁶⁵ metody chemiczne, które są najpowszechniejsze, opierając się głównie na reakcjach redukcji „*bottom-up*”,⁶⁶ oraz metody syntezy biologicznej z wykorzystaniem rozmaitych gatunków bakterii, oraz grzybów^{67,68}. Atrakcyjność ich wykorzystania w nowoczesnej medycynie wynika z ich charakterystycznych właściwości, takich jak prostota ich uzyskiwania, łatwość modyfikacji powierzchni biokoniugatami,⁶⁹ stabilność i jednorodność,⁷⁰ oraz dwie szczególnie kluczowe cechy, czyli wykazywanie zjawiska zlokalizowanego powierzchniowego rezonansu plazmonowego (LSPR) i aktywności przeciwdrobnoustrojowej^{66,71}. Zjawisko LSPR warunkuje szerokie spektrum luminescencji i charakterystyczne widmo absorpcyjne^{66,69}.

5.4.1. Nanocząsteczki złota

Nanocząsteczki złota (AuNP) stanowią wraz z nanocząsteczkami srebra (AgNP) najczęściej wykorzystywane nanocząsteczki metaliczne. AuNP są syntetyzowane głównie w rozmiarach od 0,8 do 250 nm,⁷¹ przy czym rozmiary mniejsze od 3-5 nm nadają, naturalnie obojętnemu chemicznie złotu, aktywność katalityczną⁷². Rozmiar oraz kształt reguluje także występowanie zjawiska LSPR,^{70,72} które zostało omówione na Rycinie 8. Wynika to z faktu, że odpowiednie zmiany wyżej wymienionych parametrów warunkują, jaką długość fal cząsteczka absorbuje i odbija⁷². Najlepszym przykładem takich zmodyfikowanych NP są złote nanogwiazdy, nanopręty czy nanoklatki wykazujące LSPR przy długości fal 800-1200 nm, co dało możliwość obrazowania w bliskiej podczerwieni (NIR), czyli w tzw.: „okienku biologicznym”, gdzie fale o podanej długości wykazują minimalne rozpraszanie i absorpcję w tkankach oraz znikome ich uszkodzenie, tym samym pozwalając na obrazowanie głęboko położonych warstw tkanki⁷⁰.



Rycina 8. Uproszczony schemat przebiegu zjawiska LSPR. W warunkach pobudzenia polem elektromagnetycznym, dochodzi do przesunięcia elektronów z pasma przewodnictwa z ich pozycji równowagi, co prowadzi do oscylacji i tym samym polaryzacji powierzchni NP. Oscylację powoduje siła powracająca spowodowana przyciąganiem elektronów do jąder dodatnich. Przejścia elektronów prowadzą do charakterystycznego rozproszenia promieniowania i utworzenia charakterystycznych pików w widmie absorpcyjnym. Zmodyfikowane AuNP z odpowiednimi ligandami wykazują charakterystyczne piki, które zmieniają się w wyniku adsorpcji określonych cząsteczek do powierzchni NP, zakłócających oscylację elektronów⁷²

Złoto jest też rozpatrywane jako potencjalny środek kontrastujący w tomografii komputerowej, co wynika z jego przewagi nad substancjami bazującymi na atomie jodu. W porównaniu z jodem złoto wykazuje znacznie lepszy kontrast, dzięki większej liczbie atomowej, lepszej biokompatybilności⁷⁰, znacznie wyższej zdolności absorpcji promieniowania X,⁷² oraz selektywnością w stosunku do komórek nowotworowych, dzięki efektowi EPR^{72,73}. Dodatkowo w diagnostyce próbuje się wykorzystać nanocząsteczki w tomografii

komputerowej emisji pojedynczego fotonu, w spektroskopii Ramana,^{70,72} badaniach mikrobiologicznych czy wykrywania kwasów nukleinowych i genotypowania⁶⁶.

W terapii przeciwnowotworowej AuNP również mają swój udział, i to znacznie większy, niż w metodach diagnostycznych, oferując szeroki wachlarz możliwych do zastosowania terapii. Pierwszą możliwością podejścia terapeutycznego jest terapia fototermalna,^{66,72} wykorzystująca głównie nanocząsteczki o rozmiarach 120 nm o odpowiedniej sferyczności, w celu zmaksymalizowania absorpcji w bliskiej podczerwieni^{72,74}. Następnie otrzymane cząsteczki poddaje się biokoniugacji z nanocząsteczkami krzemionkowymi i pokrywa odpowiednimi związkami warunkującymi „celowanie” otrzymanych nanocząsteczek w komórki nowotworowe,⁷⁴ po czym naświetla się guz bliską podczerwienią, prowadząc do uwolnienia energii termicznej ze zgromadzonych na komórkach nowotworowych nanocząsteczek złota, prowadząc indukcji apoptozy po około 10 minutach w temp. 41–48°C^{66,72}. Nanocząsteczki złota mają także właściwości radiouczulające, mogą stanowić świetne wsparcie radioterapii, co wynika z ich efektu EPR oraz wysokiej aktywności fotoelektrycznej, zwiększając absorpcję promieniowania i produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), przyspieszając apoptozę komórek nowotworowych^{73,74}. Ostatnim podejściem w walce z nowotworami jest wykorzystanie AuNP jako nanonośniki leków lub jako cytostatyków *per se*^{66,75}. Jako nanonośniki szczególnie interesujące są AuNP typu rdzeń-osłonka z zamkniętą wewnątrz substancją czynną,⁴⁶ które charakteryzują się zdolnością akumulacji w tkance nowotworowej, łatwością penetracji błon, możliwością kontrolowanego uwalniania,⁶⁶ optymalnym czasem półtrwania i małą ilością toksycznych metabolitów,⁷² przy czym utrudnieniem ich uzyskiwania jest proces funkcjonalizacji ich powierzchni, często zmieniający toksyczność czy farmakokinetykę NP⁷³. Z kolei wykorzystanie nanocząsteczek złota jako cytostatyków *per se*, opiera się na wykorzystaniu kompleksów AuNP wpływających na proteasomy oraz enzymy mitochondrialne komórek nowotworowych, prowadząc do ich wybiórczej lizy⁷⁵.

Trwają także prace nad wykorzystaniem AuNP w terapii gruźlicy, terapii zespołu AIDS,⁶⁹ w walce z drobnoustrojami,⁷³ czy jako związków antyangiogenne⁶⁵.

5.4.2. Nanocząsteczki srebra

Srebro jest kolejnym wyjątkowym pierwiastkiem służącym do syntezy nanocząsteczek (AgNP), charakteryzującym się wysoką toksycznością zarówno

wobec komórek nowotworowych, komórek zdrowych, jak i drobnoustrojów^{65,71}. Do komórek wnika drogą endocytozy, uszkadzając mitochondria, zwiększając syntezę reaktywnych form tlenu i czynników proapoptycznych, a także prowadząc do działania antyproliferacyjnego i antyangiogennego, poprzez interferencję szlaków metabolicznych i uszkodzenie DNA⁶⁵. Podobnie jak wcześniej wymienione złoto wykazują także efekt LSPR oraz wysoką zależność właściwości od kształtu i rozmiarów utworzonych nanocząsteczek, gdzie warto zaznaczyć, że im mniejszy ich rozmiar, tym większa toksyczność^{66,76}. Nanocząsteczki srebra mają ponadto aktywność przeciwpalną, modulując uwalnianie cytokin biorących udział w procesie zapalnym, takich jak IL-1, IL-6, IL-10, TGFβ czy IFN-γ, a także znacząco sprzyjają gojeniu się ran w wyniku modulacji ułożenia kolagenu i proliferacji keranocytów i fibroblastów^{66,67}.

Pierwsze i najpowszechniejsze wykorzystanie AgNP, wynika z ich właściwości przeciwdrobnoustrojowej, umożliwiającej eliminację grzybów, wirusów czy bakterii⁶⁹. W eliminacji tej ostatniej grupy nanocząsteczki na bazie srebra stały się wyśmienitą alternatywą dla antybiotyków, które w wyniku znacznego upowszechnienia, doprowadziły do rozwoju wielu lekoopornych szczepów bakterii,^{66,69} takich jak gronkowiec złocisty odporny na metycylinę (MRSA) czy enterobakterie wytwarzające karbapenemazy (CPE)⁷³. Mechanizm aktywności przeciwbakteryjnej AgNP jest złożony. Podstawowo działa on destrukcyjnie na błonę komórkową, hamując transport elektronów w łańcuchu oddechowym oraz uszkadzając strukturę białek budulcowych i enzymatycznych^{66,73,74}. Ponadto dzięki małym rozmiarom penetruje komórki bakteryjne, uszkadzając genomowe DNA, białka i enzymy niezbędne w replikacji i transkrypcji,^{71,73} dodatkowo sprzyjając produkcji reaktywnych form tlenu w wyniku stresu oksydacyjnego^{67,73}. Ciekawym podejściem jest terapia łączona AgNP z antybiotykami, w których stwierdzono efekt synergistyczny wobec wysokoopornych szczepów bakterii⁶⁹. Trwają też badania nad aktywnością przeciwgrzybiczą AgNP,⁷¹ oraz wykorzystaniu owych nanocząsteczek do walki z zakażeniami wirusowymi, w tym wywołanymi przez wirusa HIV^{69,71}.

Swą użyteczność nanocząsteczki srebra mogą także udowodnić w dziedzinie onkologii. Wykazują one efekty radiosensybilizujące, fotouczulające⁷⁶, antyangiogenne,⁶⁹ mogą być transporterami leków oraz samemu wykazywać efekty cytotoksyczne⁷⁰. Szczególnie obiecujące perspektywy daje ich właściwość cytotoksyczności, w której AgNP uwalniają srebro jonowe. Tworząc ROS uszkadza materiał genetyczny oraz mitochondria, aktywując szlaki proapoptyczne. Ich zaletami jest wysoka skuteczność w niskich stężeniach oraz względna swoistość względem komórek nowotworowych, ograniczająca

uszkodzenie komórek hematopoetycznych⁷⁶. Z powodu zbliżonych właściwości do nanocząsteczek złota, naukowcy wciąż badają i rozpatrują potencjalne zastosowanie AgNP również w metodach obrazowania, badań molekularnych czy terapii genowej^{67,70,73}.

5.4.3. Nanocząsteczki platyny

Wykorzystanie platyny w produkcji nanocząsteczek metalicznych jest ciągle badany i mniej rozpatrywanym podejściem, niż wykorzystanie wcześniej omówionych pierwiastków. Ich najbardziej charakterystyczną właściwością jest wysoka zdolność katalityczna i antyoksydacyjna, zapewniająca wydajny rozkład wolnych rodników w tym ROS⁷⁷. Problemem znacznie ograniczającym wykorzystanie nanoplatyny jest jej niezupełnie poznana toksyczność, gdyż wiele badań stwierdza destrukcyjny wpływ nanocząsteczek platyny na DNA, hamując tym samym cykl komórkowy, przy czym jest to zależne od wielkości, właściwości fizykochemicznych oraz metod funkcjonalizacji jej powierzchni^{74,78}.

Ze względu na zdolności katalityczne i możliwość rozkładu wolnych rodników, stanowiących często przyczynę apoptozy komórek, nanocząsteczki platyny (PtNP) są rozpatrywane jako nanozymy, czyli analogi enzymów w skali nanometrowej, mogące rozkładać reaktywne formy tlenu i tym samym działać protekcyjnie na tkanki w wielu chorobach degeneracyjnych, stanach niedokrwienia, radioterapii czy stanach zapalnych⁷⁸.

5.4.4. Nanocząsteczki palladu

Nanocząsteczki palladu (PdNP) mimo powszechnego użycia w innych dziedzinach nauki, dość niedawno przykuły uwagę w dziedzinie biomedycyny. Charakteryzują się wyśmienitymi właściwościami fizykochemicznymi, takimi jak stabilność chemiczna i termiczna, posiadają wysoką aktywność katalityczną, świetne właściwości optyczne,^{79,80} a także wykazują farmakologiczne działanie przeciwbakteryjne i cytotoksyczne⁸¹. Dodatkowo charakteryzują się wysoką możliwością modyfikowania i funkcjonalizowania ich powierzchni, co pozwala na regulowanie powyższych właściwości⁷⁹.

Ten korzystny profil PdNP sprawił, że są one rozpatrywane jako obiecujące nanocząsteczki w terapii genowej, fototermalnej, fotoakustycznej, jako nanosensory i nanonośniki leków, czy środki bakteriobójcze i przeciwnowotworowe⁷⁹⁻⁸¹. Szczególnie wartym uwagi zastosowaniem wyróżniającym PdNP na

tle innych nanocząsteczek metalicznych jest ich możliwość wykorzystania jako aktywatorów i regulatorów transformacji leków. Proces polega na przeprowadzeniu reakcji biortogonalnych, czyli rozszczepiania lub tworzenia wiązań chemicznych w środowisku fizjologicznym organizmu, co umożliwia aktywację nietoksycznych proleków w miejscu docelowego działania, ograniczając tym samym skutki uboczne. PdNP dzięki swoim właściwościom mogą stanowić katalizator reakcji biortogonalnych, co dało zadawalające rezultaty w badaniach z wykorzystaniem 5-fluorouracylu i gemcytabiny⁷⁹.

5.5. Nanocząsteczki magnetyczne

Nanocząsteczki magnetyczne są głównie cząsteczkami na bazie związków żelaza, z których najbardziej wykorzystywane są nanocząsteczki tlenku żelaza (*ang. iron oxide nanoparticles* – ION) a szczególnie superparamagnetyczne nanocząsteczki tlenku żelaza Fe₃O₄ (SPION)^{82,83}. Procesy ich uzyskiwania są bardzo zróżnicowane, jednakże dominują głównie metody chemiczne takie jak metody współstrącania, syntezy hydrotermalnej lub sonochemicznej, metody zol-żel, elektrorozpylania, czy metody odwróconych miceli⁸⁴⁻⁸⁶. Następnie otrzymane cząsteczki należy poddać odpowiedniej funkcjonalizacji oraz co ważne wektoryzacji. Funkcjonalizacja ma głównie na celu stabilizację koloidalną i uzyskanie biokompatybilności,⁸⁶ gdyż „nagie nanocząsteczki” magnetyczne mają wysoką zdolność agregacji oraz znaczną reaktywność, zachowując się jak kwasy Lewisa^{85,86}. W tym celu ION wykorzystuje się jako część kompozytów np.: rdzeń-powłoka lub powleka odpowiednimi związkami⁸⁴. Wektoryzacja natomiast jest procesem mającym na celu stabilizację w płynie fizjologicznym i wbudowanie w strukturę ION biowektorów, co pozwala na długie utrzymanie w krążeniu i wiązanie ze strukturami docelowymi⁸⁵.

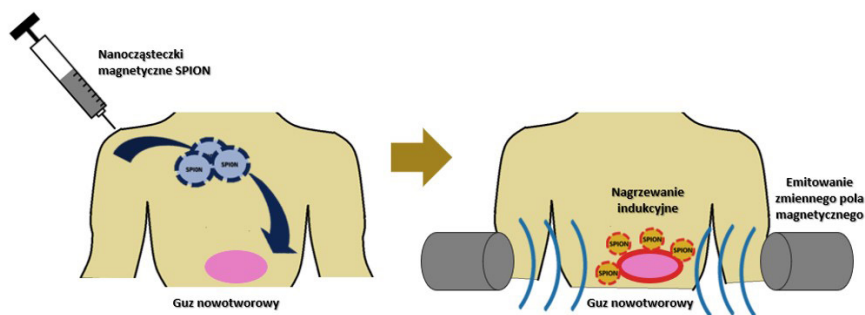
Właściwości nanocząsteczek metalicznych najlepiej opisać na przykładzie cząsteczek SPION, zaczynając od mniej obszernych właściwości chemicznych. SPION są najczęściej cząsteczkami typu rdzeń-powłoka, gdzie rdzeń buduje tlenek żelaza, najczęściej magnetyt, stanowiący silny związek ferromagnetyczny⁸⁷. Cechuje się wysoką reaktywnością, zwłaszcza z utleniaczami,⁸⁸ prowadząc do powstawania ROS w wyniku reakcji Fentona⁸⁷. Ponadto wykazuje tendencję do agregacji, stąd konieczność odpowiedniej funkcjonalizacji jego powłoki⁸⁵. Najbardziej jednak wyróżniającymi właściwościami SPION są ich właściwości magnetyczne, zależne głównie od kształtu, powierzchni i rozmiaru nanocząsteczki^{85,88}. Gdy SPION wykonane ze związku ferromagnetycznego mają rozmiary poniżej 20 nm i odpowiedni kształt,⁸⁷ wykazują właściwość

określaną superparamagnetyzmem^{85,89}. Małe rozmiary prowadzą do tego, że cząsteczka staje się jednodomenowa, a jej właściwości magnetyczne ujawniają się tylko przy wpływie zewnętrznego pola magnetycznego,⁸⁷ które prowadzi do efektu histerezy magnetycznej, czyli dopasowania wektora momentu magnetycznego cząsteczki do kierunku zewnętrznego pola⁸⁹. Dodatkowo cząsteczka wykazuje niezwykle wysoką podatność magnetyczną, brak koercji,⁸⁸ minimalną wartość owej histerezy,⁸⁹ oraz szybki czas relaksacji⁸⁵. Właściwości te przekładają się na wysoką rozdzielczość w badaniach obrazowych,⁸⁵ brak konieczności stosowania energii zewnętrznej w celu rozmagnesowania, czy znaczną wartość namagnetyzowania⁸⁸.

Na podstawie powyższych cech można śmiało stwierdzić, że głównym przewidywanym zastosowaniem nanocząsteczek SPION jest ich wykorzystanie w obrazowaniu tkanek, zwłaszcza metodą MRI⁹⁰. Obecnie najczęściej stosowanymi środkami kontrastowymi są chelaty gadolinu,⁸⁸ jednakże są niespecyficzne i pozwalają na krótkie okno obrazowania⁹⁰. Z kolei SPION charakteryzują się znacznie silniejszym namagnetyzowaniem oraz szeroką gamą możliwych modyfikacji⁸⁸. Przykładowe modyfikacje obejmują wbudowywanie antygenów lub przeciwciał skierowanych na specyficzne receptory komórek nowotworowych lub wbudowanie selektywnych cząsteczek adhezyjnych stanu zapalnego, umożliwiając ocenę rozległości zmian nowotworowych i zapalnych^{85,87}. Badano również możliwość pokrycia nanocząsteczek środkami sprzyjającymi endocytozie, takimi jak dekstran w celu poprawy wykrywalności komórek i możliwości ich izolacji w warunkach *in vivo*⁸⁷⁻⁹⁰. Ciekawym podejściem jest pokrycie komórek peptydami tat HIV-1, co umożliwiło internalizację SPION do wnętrza limfocytów i ich skuteczne obrazowanie. Ogrom metod usprawnienia tych cząsteczek daje też szerokie perspektywy w monitorowaniu ekspresji genów,⁹⁰ obrazowania naczyń limfatycznych,⁹¹ stanów niedokrwienia czy rozległości martwicy^{85,87}. Obecnie na rynku dostępnych jest kilka środków kontrastowych na bazie SPION takich jak Lumirem®, Endorem® stosowanych w obrazowaniu przewodu pokarmowego oraz chorób śledziony i wątroby, czy Sinerem® stosowany w obrazowaniu zmian nowotworowych⁹⁰.

Terapia hipertermiczna z wykorzystaniem nanocząsteczek metalicznych opiera się na dożylnym podaniu „celowanych” nanocząsteczek magnetycznych lub ich bezpośrednim wstrzyknięciu do guza,^{87,92} a następnie poddaniu cząsteczek wpływowi zmiennego pola magnetycznego, prowadzącego do przepływu prądu wewnątrz cząsteczek. Metal, stawiając opór prowadzi do wydzielania ciepła, co nazywamy nagrzewaniem indukcyjnym⁹⁰. Te innowacyjne podejście stworzyło nową perspektywę eliminacji komórek nowotworowych, zwłaszcza

guzów litych,^{85,88,92} które wykazują większą wrażliwość na wzrost temperatury, niż komórki prawidłowe^{85,90}. Terapia polega na naświetlaniu guza zmiennym polem magnetycznym przez około 30 minut, podgrzewając SPION do temperatur powyżej 41°C,⁹² najczęściej w zakresie 44 - 47°C,⁹⁰ prowadząc do apoptozy komórek nowotworowych bez uszkodzenia otaczających tkanek zdrowych^{87,92}. Metoda ta pozwala zredukować dawkę leku oraz zminimalizować skutki uboczne⁸⁸. Dodatkowo hipertermia wykazuje efekty immunostymulujące, gdyż zwiększa uwalnianie białek HSP odpowiedzialnych za wzrost immunogenności guza, tym samym zwiększając odpowiedź immunologiczną limfocytów T, co daje możliwość eliminacji przerzutów^{87,92}. W 2011 roku terapia ta została dopuszczona do leczenia glejaka wielopostaciowego wraz z metodami konwencjonalnymi, gdzie dodatkowo wykazuje efekty radio- i chemioutczulające⁸⁷.



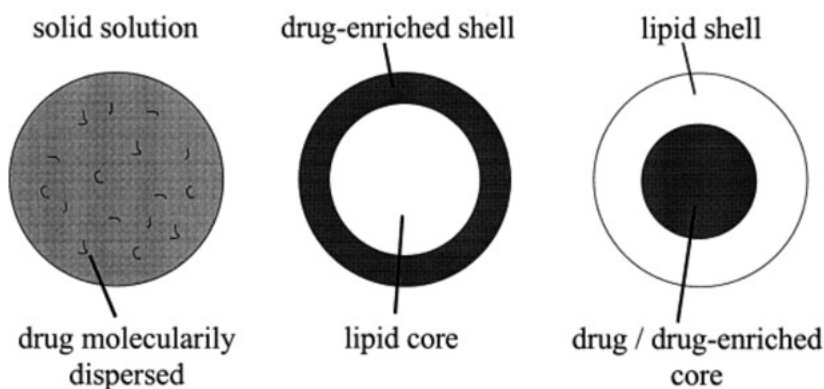
Rycina 9. Na rycinie przedstawiono schematycznie uproszczoną metodologię terapii hipertermicznej nowotworów [opracowanie własne]

Ostatnim z ważniejszych rozpatrywanych zastosowań nanocząsteczek SPION jest ich wykorzystanie jako nanonośniki leków celowanych magnetycznie⁹⁰. Wymaga to jednak odpowiedniego wsparcia struktury poprzez utworzenie „magneto-pęcherzyków” zbudowanych z SPION,⁹² oraz odpowiednich powłok zapewniających hydrofilność, kapsułkowanie zawartości, biokompatybilność oraz wsparcie dla specyficzności docelowej^{87,90}. Tak utworzone nanonośniki pod wpływem zmiennego pola magnetycznego koncentrują się w miejscu docelowym a następnie uwalniają lek^{87,92}.

Nanocząsteczki magnetyczne są także rozpatrywane jako nanosensory w diagnostyce laboratoryjnej,⁹¹ wykrywaniu i identyfikacji drobnoustrojów⁹², czynniki stymulujące różnicowanie, adhezję i tworzące rusztowania dla komórek w inżynierii tkankowej oraz działające neuroprotektoryjnie w chorobie Alzheimera^{84,87}.

5.6. Nanocząsteczki lipidowe

Nanocząsteczki lipidowe takie jak stałe nanocząsteczki lipidowe (*ang. solid lipid nanoparticles* – SLN) oraz nanostrukturalne nośniki lipidowe (*ang. nanostructured lipid carriers* – NLC) są nanomateriałami o dużej różnorodności metod otrzymywania. Proces uzyskiwania składa się z metod fabrykowania, sterylizacji i wtórnych etapów produkcji oraz modyfikacji i inkorporacji cząstek np.: leków^{93,94}. Z metod fabrykowania można wyróżnić m.in.: odmiany metody homogenizacji, wykorzystania ultradźwięków, metody oparte na mikroemulsji, płynu nadkrytycznego czy techniki opadowe,⁹³⁻⁹⁵ z czego najważniejsze są dwie zasadnicze – homogenizacja wysokociśnieniowa i technika mikroemulsyjna⁹⁶. Następnie uzyskane nanocząsteczki lipidowe poddaje się procesowi sterylizacji w celu możliwości zastosowania parenteralnego. Są to procesy ogrzewania, aseptycznej produkcji, filtracji czy napromieniowania γ ^{93,94}. Kolejnym krokiem jest zastosowanie liofilizacji lub rzadszej metody suszenia rozpyłowego w celu stabilizacji właściwości fizycznych i chemicznych⁹³. Zasadniczym procesem jest też inkorporacja leku do wnętrza nanocząsteczki lipidowej, którego przebieg jest zależny od czynników, takich jak rozpuszczalność leku w stopionym lipidzie, właściwości chemicznych i fizycznych matrycy lipidowej oraz polimorfizmu matrycy⁹⁶. Wyróżniamy trzy modele włączania leków do wnętrza SLN/NLC: model macierzy jednorodnej, model powłoki wzbogaconej i model rdzenia wzbogaconego^{92,96}.

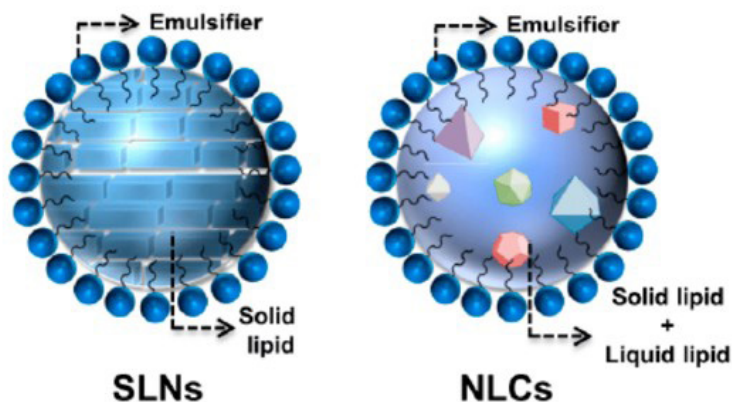


Rycina 10. Graficzne przedstawienie trzech modeli inkorporacji leków do stałych nanocząsteczek lipidowych. Od lewej są to kolejno model macierzy jednorodnej, model powłoki wzbogaconej i model rdzenia wzbogaconego⁹⁷

Nanocząsteczki lipidowe są mocno zróżnicowaną grupą nanocząsteczek, w której wyróżniamy micelle, nanomicelle środka powierzchniowo czynnego,

nanomicelle polimerowe,⁹⁸ niosomy,⁹⁹ oraz dwie najistotniejsze grupy, na których skupimy się w dalszej części rozdziału - SLN i NLC⁹³⁻⁹⁵. Stałe nanocząsteczki lipidowe o rozmiarze 50-1000 nm, są koloidalnymi nośnikami, zbudowanymi z lipidów o wysokiej temperaturze topnienia, dzięki czemu są stałe w temperaturze pokojowej i organizmu⁹⁵⁻⁹⁸. Lipidami wykorzystywanymi w ich syntezie są monoglicerydy, diglicerydy, triglicerydy, woski, kwasy tłuszczowe i steroidy, które odpowiednio modyfikowane mogą przechowywać leki hydrofilowe i hydrofobowe¹⁰¹. Zbudowane z lipidów fizjologicznych SLN wykazują niską toksyczność, biokompatybilność i lepszy wychwyt komórkowy^{93,95}. Ponadto ich zaletami jest wysoka stabilność, brak konieczności stosowania rozpuszczalników organicznych,^{99,101} zwiększanie stabilności i biodostępności leków, ochrona oksydacyjna, fotochemiczna i chemiczna, zdolność omijania układu siateczkowo-śródbłonkowego (RES),^{95,98} wysoka kontrola kinetyki uwalniania i niskie koszty produkcji^{93,101}. Jednak nie są to cząsteczki doskonałe, ponieważ wykazują potencjał do wydalania leku po przemianie polimerycznej i zwiększenia swoich rozmiarów w trakcie przechowywania. Ponadto posiadają słabą zdolność do enkapsulacji leków wynikającą z ich idealnej przestrzennej struktury i braku miejsca na dodatkowe cząsteczki^{95,100,101}. W celu pokonania tych trudności skonstruowano nową generację nonostrukturalnych nośników lipidowych (NLC), gdzie część lipidów stałych zastąpiono lipidami ciekłymi lub mieszaninami lipidów ciekłych, co doprowadziło do powstania nieustrukturyzowanego kształtu,^{95,98} zapewniającego powstawanie niedoskonałości zwiększających powierzchnię osadzania substancji aktywnych¹⁰⁰. Ponadto zapobiegają krystalizacji i zmianom zachodzącym podczas przechowywania, mają mniejszą zawartość wody i uniemożliwiają wcześniejsze wydalanie zmagazynowanych substancji^{95,100}.

Powyżej opisane nanocząsteczki idealnie pasują się w roli nanonośników, zwłaszcza leków, co stanowi obecnie ich główne badane zastosowanie w dziedzinie medycyny. Przemawiają za tym wyżej opisane zalety oraz właściwości wykazywane przy określonych drogach podawania. Przykładowo w podaniu miejscowym zarówno SLN, jak i NLC wykazują wysoką wartość okluzji, czyli tworzenia warstwy filmu na powierzchni skóry, wysoką ochronę chemiczną dla nietrwałych leków, dobrą penetrację, silną adhezję oraz możliwość kontrolowanego i długotrwałego uwalniania leków^{95,97,98}. Ponadto nanocząsteczki te dzięki niskiej toksyczności mogą być stosowane w miejscach uszkodzeń lub stanów zapalnych skóry,¹⁰⁴ dodatkowo umożliwiając uniknięcie efektu pierwszego przejścia oraz zapewniając dłuższe utrzymanie leku



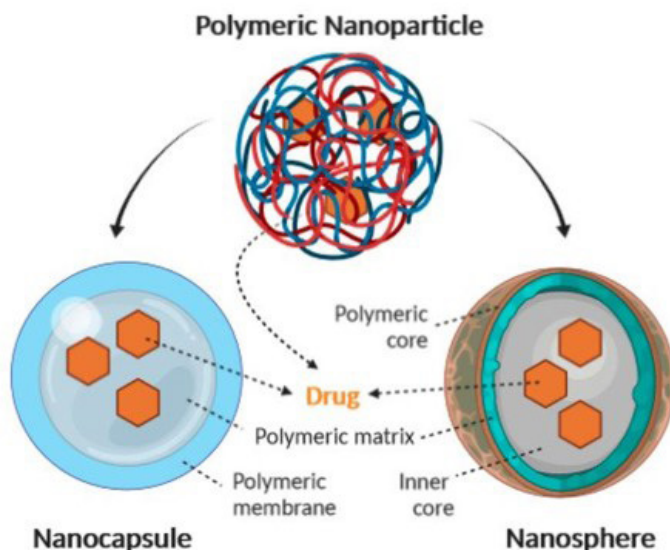
Rycina 11. Obrazowe przedstawienie stałej nanocząsteczki lipidowej (SLN) po lewej stronie ryciny i nanostrukturalnego nośnika lipidowego (NLC) po prawej stronie¹⁰²

w miejscu docelowym⁹⁹. Z kolei przy podaniu doustnym nanocząsteczki lipidowe, umożliwiając ochronę wrażliwych leków na działanie zmiennego pH czy enzymów trawiennych. Wzmacniają ponadto właściwości farmakokinetyczne leków, poprawiając ich biodostępność^{93,95,99}. Trwają także prace nad inhalacyjną drogą podania inkorporowanych nanocząsteczek w chorobach układu oddechowego, co zapewniłoby działanie w miejscu docelowym, dłuższy czas utrzymania leku oraz ominięcie procesów zachodzących w przewodzie pokarmowym,^{99,101} przy czym należy podkreślić, że głównie wykorzystywaną formą podania cząsteczek NLC i SLN pozostaje podanie parenteralne^{93,94}. Kolejną znaczną przewagą nanocząsteczek lipidowych jest szeroka pula możliwych modyfikacji ich struktury, z czego najważniejsze opierają się na „celowaniu” cząsteczek oraz ich uwrażliwianiu na określone bodźce. „Celowanie” pozwala znacznie zwiększyć wychwyt inkorporowanych nanocząsteczek przez komórki docelowe, co umożliwia ograniczenie toksyczności i zmniejszenie dawki zastosowanych leków, zwłaszcza w terapii przeciwnowotworowej^{98,101}. Natomiast uwrażliwienie prowadzi do regulacji uwalniania związanego leku wyłącznie w obecności określonych parametrów pH, termicznych, magnetycznych czy ultradźwiękowych, co dodatkowo zwiększa możliwości celowania terapii^{98,104}. Nanocząsteczki NLC i SLN okazały się też użyteczne w dostarczaniu leków do mózgu oraz narządu wzroku. W przypadku mózgu ich przydatność zapewniła zdolność zwiększonej adsorpcji i przenikania bariery krew-mózg, dzięki wykazywaniu zdolności endocytozy, fluidyzacji błon śródbłonna i otwierania połączeń ścisłych^{95,99}. W przypadku gałki ocznej, trudnością w dostarczaniu

preparatów farmaceutycznych jest nieprzepuszczalność nabłonków rogówki, bariery krew-siatkówka i krew-woda, odruchowe mruganie czy dynamika łez. W celu zwiększenia biodostępności podawanych leków szczególnie obiecujące okazały się NLC zdolne do penetrowania rogówki oraz barier anatomicznych narządu wzroku, wykazując przy tym niską toksyczność^{99,105}.

5.8. Nanocząsteczki polimerowe

Nanocząsteczki polimerowe (PNP) stanowią ostatnią grupę nanocząstek omówionych w niniejszym przeglądzie. Ich metody produkcji są starannie dobierane do pożądanych właściwości chemicznych, fizycznych i biologicznych produktów końcowych,¹⁰⁶ gdzie konwencjonalnymi technikami syntezy są metody uzyskiwania PNP, z wstępnie utworzonych polimerów lub bezpośredniej polimeryzacji monomerów^{107,108}. Wstępnie utworzone polimery są wykorzystywane w technikach wysalania, odparowania rozpuszczalnika, dializy, metodzie płynów w stanie nadkrytycznym, żelowania jonowego czy emulgacji-dyfuzji rozpuszczalnika¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Z kolei bezpośrednia polimeryzacja monomerów opiera się na mini-, makro- i emulsyjnej polimeryzacji¹⁰⁷. Następnie otrzymane nanocząsteczki polimerowe, poddaje się procesom funkcjonalizacji, z czego jednym z powszechniejszych jest pegylowanie glikolem polietylenowym (PEG), który znacznie ogranicza niechciane interakcje NP ze składnikami płynów biologicznych¹⁰⁶.



Rycina 12. Na rycinie przedstawiono schematycznie strukturę nanokapsułki i nanosfery¹¹⁰

W przypadku tej grupy NP termin „nanocząsteczki polimerowe” jest definicją zbiorczą stosowaną do wszystkich wcześniej omówionych nanocząsteczek o budowie polimerowej, przy czym w szczególności odnosi się on do nanokapsułek i nanosfer, na których głównie się skupimy w dalszym opisie^{107,108}. Nanokapsułki są układami pęcherzykowatymi, przypominającymi zbiornik z oleistym płynnym rdzeniem oraz otaczającą go stałą powłoką polimerową. Z kolei nanosfery to cząstki matrycy oparte na ciągłej sieci polimerowej, których cała masa jest stała, a cząsteczki mogą być absorbowane na ich powierzchni lub zamknięte w cząstce¹⁰⁷⁻¹¹⁰. Do głównych nanopolimerów syntetycznych zaliczamy poliaktydowe (PLA), poliglikolowe (PGA) czy polilaktydowo-koglikolidowe (PLGA), które zapewniają biokompatybilność, biodegradowalność, niską immunogenność i toksyczność^{109,111}. Ze względu na ogromną zmienność możliwego składu wykazują duże zróżnicowanie właściwości, zależne dodatkowo od funkcjonalizacji ich powierzchni, przy czym nanosfery i nanokapsułki polimerowe wykazują kilka wyróżniających je cech, do których zaliczamy ich wysoką wydajność kapsułkowania, przewyższającą inne nanocząsteczki wartość absorpcji wewnątrzkomórkowej,¹⁰⁸ możliwość kontrolowanego uwalniania i ochrony substancji inkorporowanych, olbrzymi potencjał ich modyfikowania oraz świetna biokompatybilność^{109,111}.

Powyżej opisane nanocząsteczki są głównie wykorzystywane jako systemy nanonośnikowe dla substancji aktywnych, zwłaszcza leków. Główną ich zaletą jest tu wcześniej wspomniany szeroki potencjał możliwych modyfikacji, umożliwiający „celowanie” terapii, poprawienie właściwości farmakokinetycznych leków, zmniejszenia skutków ubocznych czy uwrażliwienie cząsteczek na czynniki takie jak pH, enzymy, fale świetlne, ultradźwiękowe oraz magnetyczne^{109,112}. Umożliwiło to m.in.: stworzenie PNP przeciwnowotworowych takich jak nanopolimery chitosanu sprzężone z doksorubicyną, nanosfery poli(THP-MA) czy nanopolimerowe koniugaty PGA i metotreksatu, które dzięki uwrażliwieniu na selektywne bodźce zewnętrzne i wewnętrzne, wysokiej stabilności, niskiej toksyczności i efektowi EPR, są rozpatrywane jako obiecujące elementy przyszłych terapii¹¹²⁻¹¹⁴. Nanosfery i nanokapsułki są też rozpatrywane jako potencjalne nanonośniki leków przeciwzapalnych,¹¹³ hormonów oraz leków przeciwdrobnoustrojowych¹¹⁵.

6. Podsumowanie

Postępujący rozwój nanotechnologii oraz uzyskiwane dzięki niej nanomateriały, otwierają przed współczesną medycyną ogrom nowych możliwości,

pozwalając pierwszy raz w historii działać w organizmie człowieka na poziomie atomowym. Ogromne ich zróżnicowanie daje naukowcom praktycznie niewyczerpalne źródło do tworzenia rozmaitych leków, systemów diagnostycznych czy terapii leczniczych opartych na tych niezwyklej cząsteczkach. Szczególnie onkologia i diagnostyka czerpią pełnymi garściami z osiągnięć dziedziny nanotechnologii, co pozwala na doskonalenie obecnie istniejących procedur leczenia i diagnozy oraz tworzenie zupełnie nowych ich metod. Intensywne badania dotyczą, zwłaszcza wysoce inteligentnych nanonośników, które dzięki swym rozmiarom i odpowiedniej modyfikacji są w stanie wybiórczo penetrować praktycznie wszystkie komórki naszego organizmu, między innymi nowotworowe - umożliwiając ich leczenie, obrazowanie czy eliminację. Nie ulega wątpliwości, że w ciągu najbliższych dekad te osobliwe miniaturowe cząsteczki staną się jednym z najważniejszych zagadnień współczesnej medycyny, pozwalając na przekraczanie kolejnych barier i przewyżczanie trudności w walce z zagrażającymi nam chorobami.

Referencje

1. Hulla, J. E., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12), 1318-1321.
2. Świątek-Prokop, J. (2012). Nanomateriały—zalety i zagrożenia. *Prace Naukowe Akademii im. Jana Długosza w Częstochowie. Seria: Edukacja Techniczna i Informatyczna*, 7, 47-57
3. Szczyglewska, P., Feliczak-Guzik, A., & Nowak, I. J. (2017). Nanostructures: General information. The use of nanoobjects in medicine and cosmetology. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 71
4. Thrall, J. H. (2004). Nanotechnology and medicine. *Radiology*, 230(2), 315-318 doi:10.1148/radiol.2302031698
5. Rabiee, M., Rabiee, N., Salarian, R., & Rabiee, G. (2019). *Introduction to Nanomaterials in Medicine*. Morgan & Claypool Publishers. doi: 10.1088/2053-2571/aafb0c
6. De, M., Ghosh, P. S., & Rotello, V. M. (2008). Applications of nanoparticles in biology. *Advanced Materials*, 20(22), 4225-4241. doi:10.1002/adma.200703183

7. Firkowska, I., Giannona, S., Rojas-Chapana, J. A., Luecke, K., Brüstle, O., & Giersig, M. (2008). Biocompatible nanomaterials and nanodevices promising for biomedical applications. In *Nanomaterials for Application in Medicine and Biology* (pp. 1-15). Springer, Dordrecht
8. Kolahalam, L. A., Viswanath, I. K., Diwakar, B. S., Govindh, B., Reddy, V., & Murthy, Y. L. N. (2019). Review on nanomaterials: Synthesis and applications. *Materials Today: Proceedings*, 18, 2182-2190
9. Saleh, T. A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 101067
10. Henry, C. R. (2005). Morphology of supported nanoparticles. *Progress in surface science*, 80(3-4), 92-116.
11. Lehner, R., Wang, X., Marsch, S., & Hunziker, P. (2013). Intelligent nanomaterials for medicine: carrier platforms and targeting strategies in the context of clinical application. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 9(6), 742-757
12. Brydson R.M., Hammond C.: Wytwarzanie i klasyfikacja nanostruktur. W: Nanotechnologie, red.: R.W. Kelsall, I.W. Hamley, M. Geoghegan. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008, 1-56
13. Cao, G. (2004). *Nanostructures & nanomaterials: synthesis, properties & applications*. Imperial college press.
14. Rao, C. N. R., Müller, A., & Cheetham, A. K. (Eds.). (2006). *The chemistry of nanomaterials: synthesis, properties and applications*. John Wiley & Sons
15. Langford, R. M., Nellen, P. M., Gierak, J., & Fu, Y. (2007). Focused ion beam micro-and nanoengineering. *MRS bulletin*, 32(5), 417-423.
16. Prasad, R. (2019). *Microbial nanobionics*. Springer International Publishing.
17. Pantidos, N., & Horsfall, L. E. (2014). Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5(5), 1.

18. Hasan, S. (2015). A review on nanoparticles: their synthesis and types. *Res. J. Recent Sci*, 2277, 2502.
19. Singh, P., Gonzalez, M. J., & Manchester, M. (2006). Viruses and their uses in nanotechnology. *Drug development research*, 67(1), 23-41
20. Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., & Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 6(2), 257-262.
21. Wen, A. M., & Steinmetz, N. F. (2016). Design of virus-based nanomaterials for medicine, biotechnology, and energy. *Chemical Society Reviews*, 45(15), 4074-4126.
22. Manchester, M., & Steinmetz, N. F. (2009). *Viruses and nanotechnology* (p. 147). Berlin: Springer.
23. Iravani, S. (2014). Bacteria in nanoparticle synthesis: current status and future prospects. *International scholarly research notices*, 2014.
24. Maliszewska, I. (2012). Biologiczna synteza nanocząstek metali. *Wiadomości Chemiczne*, 1023-1040.
25. Lloyd, J. R., Byrne, J. M., & Coker, V. S. (2011). Biotechnological synthesis of functional nanomaterials. *Current opinion in biotechnology*, 22(4), 509-515
26. Saxena, J., Sharma, M. M., Gupta, S., & Singh, A. (2014). Emerging role of fungi in nanoparticle synthesis and their applications. *World J Pharm Sci*, 3(9), 1586-1613.
27. Guilger-Casagrande, M., & Lima, R. D. (2019). Synthesis of silver nanoparticles mediated by fungi: a review. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 287.
28. Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D., & Yang, D. C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), 588-599
29. Dauthal, P., & Mukhopadhyay, M. (2016). Noble metal nanoparticles: plant-mediated synthesis, mechanistic aspects of synthesis, and applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 55(36), 9557-9577.

30. Krpetić, Ž., Anguissola, S., Garry, D., Kelly, P. M., & Dawson, K. A. (2014). *Nanomaterials: Impact on Cells and Cell Organelles* (pp. 135–156). https://doi.org/10.1007/978-94-017-8739-0_8
31. Cheng, L. C., Jiang, X., Wang, J., Chen, C., & Liu, R. S. (2013). Nano–bio effects: interaction of nanomaterials with cells. *Nanoscale*, 5(9), 3547–3569.
32. Verma, A., & Stellacci, F. (2010). Effect of surface properties on nanoparticle–cell interactions. *small*, 6(1), 12–21.
33. Wahid, F., Khan, T., Shehzad, A., Ul-Islam, M., & Kim, Y. Y. (2014). Interaction of nanomaterials with cells and their medical applications. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 14(1), 744–754.
34. Kliknij lub naciśnij tutaj, aby wprowadzić tekst. Rascol, E., Devoisselle, J. M., & Chopineau, J. (2016). The relevance of membrane models to understand nanoparticles–cell membrane interactions. *Nanoscale*, 8(9), 4780–4798.
35. Lewinski, N., Colvin, V., & Drezek, R. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. *small*, 4(1), 26–49.
36. Yu, J., Loh, X. J., Luo, Y., Ge, S., Fan, X., & Ruan, J. (2020). Insights into the epigenetic effects of nanomaterials on cells. *Biomaterials Science*, 8(3), 763–775.
37. Lim, S. Y., Shen, W., & Gao, Z. (2015). Carbon quantum dots and their applications. *Chemical Society Reviews*, 44(1), 362–381.
38. Jacak, L., Hawrylak, P., & Wojs, A. (2013). *Quantum dots*. Springer Science & Business Media.
39. Pleskova, S., Mikheeva, E., & Gornostaeva, E. (2018). Using of quantum dots in biology and medicine. *Cellular and molecular toxicology of nanoparticles*, 323–334.
40. Mazumder, S., Dey, R., Mitra, M. K., Mukherjee, S., & Das, G. C. (2009). Review: biofunctionalized quantum dots in biology and medicine. *J Nanomater* 2009: 1–17.
41. Geszke-Moritz, M., & Moritz, M. (2015). Wszechstronność zastosowań kropek kwantowych. *Przemysł Chemiczny*, 94, 1924–1931

42. Zrazhevskiy, P., & Gao, X. (2009). Multifunctional quantum dots for personalized medicine. *Nano today*, 4(5), 414-428.
43. Wiśniewski, M., Roszek, K., Czarnecka, J., & Bolibok, P. (2016). Węglowe kropki kwantowe jako potencjalne nośniki leków. *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 19, 277-288.
44. Frąckowiak, D., Staśkowiak, E., & Łukasiewicz, J. (2005). Kropki kwantowe w biotechnologii i medycynie. *Postępy fizyki*, 56(1), 12-19
45. Bailey, R. E., Smith, A. M., & Nie, S. (2004). Quantum dots in biology and medicine. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 25(1), 1-12.
46. Rzeszutek, J., Matysiak, M., Czajka, M., Sawicki, K., Rachubik, P., Kruszewski, M., & Kapka-Skrzypczak, L. (2014). Zastosowanie nanocząstek i nanomateriałów w medycynie. *Hygeia Public Health*, 49(3), 449-457.
47. Bojko, Ł., & Ryniewicz, A. M. (2015). Wykorzystanie grafenu w medycynie: studium literaturowe. *Problemy Nauk Stosowanych*, 3.
48. Wudl, F. (2002). Fullerene materials. *Journal of Materials Chemistry*, 12(7), 1959-1963.
49. Grebowski, J., & Krokosz, A. (2010). Fulereny w radiobiologii. *Postępy Biochemii*, 56(4).
50. He, H., Pham-Huy, L. A., Dramou, P., Xiao, D., Zuo, P., & Pham-Huy, C. (2013). Carbon nanotubes: applications in pharmacy and medicine. *BioMed research international*, 2013.
51. Świdwińska-Gajewska, A. M., & Czerczak, S. (2016). Fulereny – charakterystyka substancji, działanie biologiczne i dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego. *Medycyna Pracy*, 67(3), 397-410.
52. Cheung, W., Pontoriero, F., Taratula, O., Chen, A. M., & He, H. (2010). DNA and carbon nanotubes as medicine. *Advanced drug delivery reviews*, 62(6), 633-649.
53. Castro, E., Garcia, A. H., Zavala, G., & Echegoyen, L. (2017). Fullerenes in biology and medicine. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(32), 6523-6535.

54. Grębowski, J., Kaźmierska, P., & Krokosz, A. (2013). Fulerenol–właściwości i zastosowanie w naukach biomedycznych. *Postępy Hig Med Dosw (online)*, 67, 859-871.
55. Bosi, S., Da Ros, T., Spalluto, G., & Prato, M. (2003). Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications. *European journal of medicinal chemistry*, 38(11-12), 913-923.
56. Kubiak, M. (2014). Dendrymery–fascynujące nanocząsteczki w zastosowaniu w medycynie. *Chemik*, 68(2), 141-150.
57. Abbasi, E., Aval, S. F., Akbarzadeh, A., Milani, M., Nasrabadi, H. T., Joo, S. W., ... & Pashaei-Asl, R. (2014). Dendrimers: synthesis, applications, and properties. *Nanoscale research letters*, 9(1), 1-10.
58. Najafi, F., Salami-Kalajahi, M., & Roghani-Mamaqani, H. (2021). A review on synthesis and applications of dendrimers. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 18(3), 503-517
59. Boas, U., Christensen, J. B., & Heegaard, P. M. (2006). *Dendrimers in medicine and biotechnology: new molecular tools*. Royal Society of Chemistry.
60. Szymański, P., Markowicz, M., & Mikiciuk-Olasik, E. (2012). Zastosowanie nanotechnologii w medycynie i farmacji. *LAB Laboratoria, Aparatura, Badania*, 17, 51-56.
61. Sekowski, S., Miłowska, K., & Gabryelak, T. (2008). Dendrimers in biomedical sciences and nanotechnology. *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczałnej (Online)*, 62, 725-733.
62. Wu, L. P., Ficker, M., Christensen, J. B., Trohopoulos, P. N., & Moghimi, S. M. (2015). Dendrimers in medicine: therapeutic concepts and pharmaceutical challenges. *Bioconjugate chemistry*, 26(7), 1198-1211.
63. Balogh, L., Bielinska, A., Eichman, J. D., Valluzzi, R., Lee, I., Baker, J. R., ... & Khan, M. K. (2002). Dendrimer nanocompositer in medicine. *Chimica oggi*, 20(5), 35-40.
64. Oliveira, J. M., Salgado, A. J., Sousa, N., Mano, J. F., & Reis, R. L. (2010). Dendrimers and derivatives as a potential therapeutic tool in regenerative medicine strategies—A review. *Progress in Polymer Science*, 35(9), 1163-1194.

65. Chugh, H., Sood, D., Chandra, I., Tomar, V., Dhawan, G., & Chandra, R. (2018). Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(sup1), 1210-1220.
66. Lizoń, A., & Drożdż, R. (2018). Nanocząsteczki metali w zastosowaniach diagnostycznych i terapeutycznych. *Przegląd Lekarski*, 75(9).
67. Wong, K. K., & Liu, X. (2010). Silver nanoparticles—the real “silver bullet” in clinical medicine?. *MedChemComm*, 1(2), 125-131.
68. Gericke, M., & Pinches, A. (2006). Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*, 83(1-4), 132-140.
69. Rai, M., Ingle, A. P., Birla, S., Yadav, A., & Santos, C. A. D. (2016). Strategic role of selected noble metal nanoparticles in medicine. *Critical reviews in microbiology*, 42(5), 696-719.
70. Thota, S., & Crans, D. C. (Eds.). (2018). *Metal nanoparticles: synthesis and applications in pharmaceutical sciences*. John Wiley & Sons.
71. Bekier, A., Krzyżowska, M., & Sadowska, B. (2018). NANO-CZĄSTKI METALI - WYKORZYSTANIE W LECZENIU ZAKAŻEŃ. *Kosmos*, 67(4), 875-888.
72. Balcer, E., & Mazur, M. (2020). NANOCZĄSTKI ZŁOTA W DIAGNOSTYCE I TERAPII NOWOTWORÓW–WYBRANE ZASTOSOWANIA. *BIULETYN Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego*, 1, 1-9.
73. Klębowski, B., Depciuch, J., Parlińska-Wojtan, M., & Baran, J. (2018). Applications of noble metal-based nanoparticles in medicine. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 4031.
74. Yamada, M., Foote, M., & Prow, T. W. (2015). Therapeutic gold, silver, and platinum nanoparticles. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 7(3), 428-445.
75. Śliwińska-Hill, U., Celmer, J., & Trynda-Lemiesz, L. (2013). Związki złota jako potencjalne leki przeciwnowotworowe nowej generacji. *Nowotwory*, 63(6), 456-462
76. Wei, L., Lu, J., Xu, H., Patel, A., Chen, Z. S., & Chen, G. (2015). Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug discovery today*, 20(5), 595-601.

77. Shiny, P. J., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014). Haemo-compatibility assessment of synthesised platinum nanoparticles and its implication in biology. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(6), 991-997.
78. Pedone, D., Moglianetti, M., De Luca, E., Bardi, G., & Pompa, P. P. (2017). Platinum nanoparticles in nanobiomedicine. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4951-4975.
79. Phan, T. T. V., Huynh, T. C., Manivasagan, P., Mondal, S., & Oh, J. (2020). An up-to-date review on biomedical applications of palladium nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(1), 66.
80. Al-Fakeh, M., Osman, S. O. M., Gassoumi, M., Rabhi, M., & Omer, M. (2021). Characterization and Antimicrobial and Anti-cancer Properties of Palladium Nanoparticles Biosynthesized Optimally Using Saudi Propolis. *Nanomaterials*, 11(10), 2666.
81. Yaqoob, S. B., Adnan, R., Rameez Khan, R. M., & Rashid, M. (2020). Gold, silver, and palladium nanoparticles: a chemical tool for biomedical applications. *Frontiers in Chemistry*, 8, 376.
82. Rahman, M. (Ed.). (2011). *Nanomaterials*. BoD—Books on Demand.
83. Singh, N., Jenkins, G. J., Asadi, R., & Doak, S. H. (2010). Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano reviews*, 1(1), 5358.
84. Friedrich, R. P., Cicha, I., & Alexiou, C. (2021). Iron oxide nanoparticles in regenerative medicine and tissue engineering. *Nanomaterials*, 11(9), 2337.
85. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., & Muller, R. N. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical reviews*, 108(6), 2064-2110.
86. Ling, D., & Hyeon, T. (2013). Chemical design of biocompatible iron oxide nanoparticles for medical applications. *Small*, 9(9-10), 1450-1466.

87. Dulińska-Litewka, J., Łazarczyk, A., Hałubiec, P., Szafrąński, O., Karnas, K., & Karewicz, A. (2019). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles—Current and prospective medical applications. *Materials*, 12(4), 617.bryd
88. Huber, D. L. (2005). Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small*, 1(5), 482-501.
89. Xiao, Y., & Du, J. (2020). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 8(3), 354-367
90. Berry, C. C., & Curtis, A. S. (2003). Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 36(13), R198.
91. Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., Wilczewska, A. Z., & Car, H. (2012). Magnetic nanoparticles as new diagnostic tools in medicine. *Advances in medical sciences*, 57(2), 196-207.
92. Kobayashi, T. (2011). Cancer hyperthermia using magnetic nanoparticles. *Biotechnology journal*, 6(11), 1342-1347.
93. Yadav, N., Khatak, S., & Sara, U. S. (2013). Solid lipid nanoparticles-a review. *Int. J. Appl. Pharm*, 5(2), 8-18.
94. Mehnert, W., & Mäder, K. (2012). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 83-101.
95. Mishra, V., Bansal, K. K., Verma, A., Yadav, N., Thakur, S., Sudhakar, K., & Rosenholm, J. M. (2018). Solid lipid nanoparticles: Emerging colloidal nano drug delivery systems. *Pharmaceutics*, 10(4), 191.
96. Lasoń, E., & Ogonowski, J. (2011). Stałe nanocząsteczki lipidowe - charakterystyka, zastosowanie i otrzymywanie. *Chemik*, 65(10), 960-967.
97. Müller, R. H., Mäder, K., & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 50(1), 161-177.

98. Tawfik, S. M., Azizov, S., Elmasry, M. R., Sharipov, M., & Lee, Y. I. (2021). Recent advances in nanomicelles delivery systems. *Nanomaterials*, 11(1), 70.
99. Khosa, A., Reddi, S., & Saha, R. N. (2018). Nanostructured lipid carriers for site-specific drug delivery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, 598-613.
100. Gordillo-Galeano, A., & Mora-Huertas, C. E. (2018). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: A review emphasizing on particle structure and drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 133, 285-308.
101. Naseri, N., Valizadeh, H., & Zakeri-Milani, P. (2015). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: structure, preparation and application. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(3), 305.
102. Rahman, H. S., Othman, H. H., Hammadi, N. I., Yeap, S. K., Amin, K. M., Samad, N. A., & Alitheen, N. B. (2020). Novel drug delivery systems for loading of natural plant extracts and their biomedical applications. *International journal of nanomedicine*, 15, 2439
103. Paliwal, R., Paliwal, S. R., Kenwat, R., Kurmi, B. D., & Sahu, M. K. (2020). Solid lipid nanoparticles: A review on recent perspectives and patents. *Expert opinion on therapeutic patents*, 30(3), 179-194.
104. Iqbal, M. A., Md, S., Sahni, J. K., Baboota, S., Dang, S., & Ali, J. (2012). Nanostructured lipid carriers system: recent advances in drug delivery. *Journal of drug targeting*, 20(10), 813-830.
105. Vaishya, R. D., Khurana, V., Patel, S., & Mitra, A. K. (2014). Controlled ocular drug delivery with nanomicelles. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 6(5), 422-437.
106. Elsabahy, M., & Wooley, K. L. (2012). Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2545-2561.
107. Rao, J. P., & Geckeler, K. E. (2011). Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. *Progress in polymer science*, 36(7), 887-913.

108. Lu, X. Y., Wu, D. C., Li, Z. J., & Chen, G. Q. (2011). Polymer nanoparticles. *Progress in molecular biology and translational science*, 104, 299-323.
109. Castro, K. C. D., Costa, J. M., & Campos, M. G. N. (2022). Drug-loaded polymeric nanoparticles: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(1), 1-13.
110. Zielińska, A., Carreiró, F., Oliveira, A. M., Neves, A., Pires, B., Venkatesh, D. N., ... & Souto, E. B. (2020). Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology. *Molecules*, 25(16), 3731.
111. Nagavarma, B. V. N., Yadav, H. K., Ayaz, A. V. L. S., Vasudha, L. S., & Shivakumar, H. G. (2012). Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles-a review. *Asian J Pharm Clin Res*, 5(3), 16-23
112. Shanmuganathan, R., Edison, T. N. J. I., LewisOscar, F., Kumar, P., Shanmugam, S., & Pugazhendhi, A. (2019). Chitosan nanoparticles: an overview of drug delivery against cancer. *International journal of biological macromolecules*, 130, 727-736.
113. Swainson, S. M., Styliari, I. D., Taresco, V., & Garnett, M. C. (2019). Poly (glycerol adipate)(PGA), an enzymatically synthesized functionalizable polyester and versatile drug delivery carrier: A literature update. *Polymers*, 11(10), 1561.
114. Jung, J., Lee, I. H., Lee, E., Park, J., & Jon, S. (2007). pH-sensitive polymer nanospheres for use as a potential drug delivery vehicle. *Bio-macromolecules*, 8(11), 3401-3407.
115. Fanun, M. (2016). *Colloids in drug delivery*. CRC Press.

Monografia "Innowacje w medycynie. Przegląd wybranych technologii XXI w. tom 6" stanowi kolejną edycję popularnej serii poświęconej najnowszym postępom jakie dokonują się w naukach medycznych i okołomedycznych.

Monografia zawiera 16 rozdziałów naukowych poświęconych szerokiej tematyce postępu, który dokonał się w medycynie. W pierwszej części przyjrzymy się nowym technologiom pozwalającym lepiej diagnozować i monitorować choroby w zakresie specjalizacji takich jak onkologia, kardiologia, anestezjologia czy psychiatria. Dalej przechodzimy do tematu profilaktyki, czyli rozwiązań związanych z prewencją chorób - szczepionek, a także zagadnień związanych z korzystaniem z maseczek ochronnych. W ostatniej części omawiamy nowe techniki terapeutyczne zarówno w dziedzinie nauk zabiegowych, jak i niezabiegowych.